



Recherche de marqueurs physiologiques de tolérance à l'ennoyage chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et chez le chêne sessile (*Quercus petraea* [Matt] Liebl.)

Bastien Gérard

► To cite this version:

Bastien Gérard. Recherche de marqueurs physiologiques de tolérance à l'ennoyage chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et chez le chêne sessile (*Quercus petraea* [Matt] Liebl.). Biologie végétale. Université de Franche-Comté, 2008. Français. NNT : . tel-00725019v2

HAL Id: tel-00725019

<https://theses.hal.science/tel-00725019v2>

Submitted on 23 Aug 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ
Spécialité : Sciences de la vie

**Recherche de marqueurs physiologiques de tolérance à l'ennoyage
chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.)
et chez le chêne sessile (*Quercus petraea* [Matt] Liebl.)**

par

Bastien GÉRARD

U.F.R. SCIENCES, TECHNIQUES ET GESTION DE L'INDUSTRIE
Laboratoire de Chrono-environnement (UMR UFC/CNRS 6249 USC INRA)
École doctorale : Homme, Environnement, Santé

Soutenue publiquement le 17 juin 2008 devant le jury composé de :

Directeur de thèse :

M. le Professeur **Pierre-Marie BADOT**

Université de Franche-Comté

Président du jury :

M. le Directeur de Recherche, Dr. **Christophe ROBIN**

INRA - INPL (ENSAIA) Nancy

Rapporteurs :

Mme le Maître de Conférences HDR, Dr. **Nathalie LEDUC-LE BRETON**

Université d'Angers

M. le Maître de Conférences HDR, Dr. **Yves JOLIVET**

Université de Nancy

Examineurs :

M. le Chargé de Recherche, Dr. **Jean-Philippe BEDELL**

LSE - ENTPE Vaulx-en-Velin

M. le Maître de Conférences, Dr. **Badr ALAOUI-SOSSE**

Université de Franche-Comté

Remerciements

Ce travail de thèse réalisé sous la direction du Professeur Pierre-Marie Badot et avec l'aide du Docteur Badr Alaoui-Sossé a été financé par la Communauté d'Agglomération du Pays de Montbéliard (CAPM)

Mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

A Nathalie Leduc, Yves Jolivet, Christophe Robin et Jean-Philippe Bedell pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail et d'avoir accepté de faire partie du jury.

A Pierre-Marie Badot pour m'avoir fait confiance en m'acceptant en DEA puis en thèse au sein du Laboratoire de Biologie Environnementale / Laboratoire de Chrono-environnement.

Mes plus vifs remerciements à mes collègues et amis en particulier à Marie-Laure Toussaint pour avoir participé à ce travail de recherche ainsi qu'à tous les autres collègues Mombéliardais, notamment à Geneviève Chiapusio et Philippe Binet pour leur accueil chaleureux et leur soutien.

J'ai bien sûr une pensée particulière pour Sandrine Barthod, avec qui j'ai partagé le bureau des thésards de Montbéliard, pour sa gentillesse, sa bonne humeur et l'entraide !

*Un grand merci aux petites mains, les stagiaires de passages que j'ai eut le plaisir d'encadrer et qui ont pu participer à ce travail :
Karine, Samia, Olivier, Chahida, Sophie et Vanessa.*

Je n'oublie pas non plus mes collègues de Besançon : Nadia Crini et Pascale Bourgeade pour m'avoir fait bénéficier de leurs compétences, Hélène Folzer, Claire Parent, Anne Ginoux, Julien Parelle, James Dat, Nicolas Capelli ...pour leur esprit d'ouverture et les échanges scientifiques "hypoxiques".

Je pense aussi à tous ceux que j'ai côtoyé, Fabienne, Dom', Francis, Thomas, Renaud, Michaël, Dave ... pour leur sympathie et leur bonne humeur.

*J'ai une pensée particulière pour la petite clique de thésards & Co, Amélie, Micka, Fred, Coline, Claire, Laure, Sam, Grég, Clém, Marc ...
mes autres amis du cru Francomtois Annick, Yan, Erwouéch, et 1001' ...
pour les bons moments passés ensemble !*

*Je pense aussi à tous mes amis qui m'ont fait confiance et qui m'ont soutenu d'une manière ou d'une autre pendant ces années de thèse
(désolé de ne pas tous vous citer).*

Pour finir, je remercie profondément tous mes proches qui m'ont soutenu sans jamais douter de moi, qui m'ont donné les moyens, le temps et l'énergie nécessaire pour poursuivre mes études jusqu'à la réalisation de ce travail.

I. INTRODUCTION	1
II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	9
II.1 LE CHENE PEDONCULE ET LE CHENE SESSILE	11
II.2 LES PHENOMENES D'ENNOYAGE	14
II.3 MODIFICATIONS FONCTIONNELLES DU SOL EN CONDITIONS D'ENNOYAGE	16
II.4 REPNES DES PLANTES A L'ENNOYAGE	19
II.4.1 DIFFERENTES STRATEGIES ADOPTEES FACE AUX PHENOMENES D'ENNOYAGE	19
II.4.2 ENNOYAGE ET REPARTITION DES ESPECES VEGETALES	20
II.4.3 REPNES PHYSIOLOGIQUES A L'ENNOYAGE ET CONSEQUENCES SUR LA CROISSANCE	21
II.4.3.1 Croissance et accumulation de biomasse	21
II.4.3.2 Réponses morphologiques et anatomiques du système racinaire	23
II.4.3.3 Réponses physiologiques de la partie aérienne	25
II.4.4 REPNES METABOLIQUES ET CELLULAIRES	28
II.4.5 REPNES MOLECULAIRES	32
II.4.6 PERCEPTION DU STRESS, SIGNALISATION ET INDUCTION DES REPNES A L'ENNOYAGE	33
II.5 GESTION DES RESERVES GLUCIDIQUES	37
II.6 PERTURBATIONS DE LA NUTRITION MINERALE	38
III. MATERIELS ET METHODES	43
III.1 MATERIEL VEGETAL ET CONDITIONS DE CULTURE	45
III.1.1 MATERIEL VEGETAL	45
III.1.2 PREPARATION DES SEMIS	45
III.1.3 SUBSTRAT DE CULTURE	46
III.1.4 CONDITIONS DE CULTURE, D'ARROSAGE, D'ENNOYAGE ET SUIVI DU POTENTIEL D'OXYDOREDUCTION	47
III.2 RECOLTES DES SEMIS ET CINETIQUES EXPERIMENTALES	48
III.3 ANALYSES DU SUBSTRAT DE CULTURE	52
III.3.1 ECHANTILLONNAGE DU SOL RHIZOSPHERIQUE	52
III.3.2 EXTRACTION ET ANALYSE DES TENEURS EN AZOTE DU SOL	52
III.3.3 EXTRACTION ET ANALYSE DES ELEMENTS MINERAUX DU SOL (Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn)	53
III.4 MESURES DES PARAMETRES DE CROISSANCE ET DE DEVELOPPEMENT DES SEMIS	53
III.4.1 LONGUEURS, POTENTIEL HYDRIQUE, SURFACES FOLIAIRES ET BIOMASSES	53
III.4.2 ARCHITECTURE RACINAIRE DETAILLEE	54
III.4.3 TAUX DE CROISSANCE ET DE MOBILISATION DES RESERVES COTYLEDONAIRES	54
III.5 ANALYSES BIOCHIMIQUES	54
III.5.1 EXTRACTION DES GLUCIDES	54
III.5.2 DOSAGE DE L'AMIDON	55
III.5.3 DOSAGE DU SACCHAROSE	55
III.5.4 DOSAGE DES SUCRES REDUCTEURS	56
III.5.5 TENEUR EN CARBONE ORGANIQUE TOTAL (COT)	56
III.5.6 EXTRACTION ET DOSAGE DES NITRATES DANS LES RACINES	56
III.5.7 EXTRACTION ET DOSAGE DES ACIDES AMINES	57
III.5.8 EXTRACTION ET DOSAGE DES CHLOROPHYLLES	57
III.5.9 EXTRACTION ET DOSAGE DE L'AZOTE SOLUBLE, INSOLUBLE ET TOTAL (KJELDAHL)	57
III.6 ANALYSES ENZYMATIQUES	58
III.6.1 MESURE IN VIVO DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE DE LA NITRATE REDUCTASE (NR)	58

III.6.2 EXTRACTION PROTEIQUE ET MESURE IN VITRO DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE DE LA GLUTAMINE SYNTHETASE (GS)	59
III.6.3 EXTRACTION PROTEIQUE ET MESURE IN VITRO DE L'ACTIVITE DES AMYLASES DES COTYLEDONS	60
III.6.4 DOSAGE DES PROTEINES DANS LES EXTRAITS ENZYMATIQUES	60
III.7 ANALYSES STATISTIQUES	61
IV. RESULTATS - I -	65
IV.1 VARIATIONS DU POTENTIEL D'OXYDOREDUCTION	67
IV.2 CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DES SEMIS	68
IV.2.1 TAUX DE DEVELOPPEMENT DES ETAGES FOLIAIRES	68
IV.2.2 SURFACE FOLIAIRE	69
IV.2.3 CROISSANCE DES TIGES	69
IV.2.4 ELONGATION RACINAIRE	70
IV.2.5 ACCUMULATION DE BIOMASSE	71
IV.2.6 TAUX DE CROISSANCE RELATIF EN BIOMASSE, <i>RELATIVE GROWTH RATE</i> (RGR)	74
IV.2.7 ARCHITECTURE RACINAIRE	74
IV.3 POTENTIEL HYDRIQUE	81
V. DISCUSSION - I -	85
V.1 CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DE L'APPAREIL AERIEN	87
V.2 CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DE L'APPAREIL RACINAIRE	89
V.3 EFFETS DU DRAINAGE	93
V.4 POTENTIEL HYDRIQUE DES SEMIS	95
V.5 DIFFERENCES ENTRE ESPECES ET SELON LES PROVENANCES DES SEMIS	96
VI. RESULTATS - II -	99
VI.1 DISTRIBUTION DE L'AMIDON DANS LES SEMIS	101
VI.1.1 ACCUMULATION D'AMIDON DANS LES RACINES	101
VI.1.2 ACCUMULATION D'AMIDON DANS LES PARTIES AERIENNES	102
VI.1.3 DISTRIBUTION DE L'AMIDON LE LONG DES PIVOTS	103
VI.2 TENEURS EN SUCRES SOLUBLES	104
VI.2.1 SUCRES REDUCTEURS	104
VI.2.2 SUCRES SOLUBLES TOTAUX ET SACCHAROSE	106
VI.3 RESERVES COTYLEDONAIRES	107
VI.3.1 EVOLUTION DE LA BIOMASSE COTYLEDONAIRE	107
VI.3.2 MOBILISATION DE L'AMIDON DES COTYLEDONS	109
VI.3.3 VITESSE DE MOBILISATION DES RESERVES COTYLEDONAIRES	111
VI.3.4 TENEURS EN SUCRES SOLUBLES DES COTYLEDONS	113
VI.4 EVOLUTION DES RESERVES GLUCIDIQUES DANS LES COTYLEDONS DONT ON EMPECHE LES ACTIVITES PHOTOSYNTHETIQUES	115
VI.4.1 MOBILISATION DE L'AMIDON DES COTYLEDONS	116
VI.4.2 TENEURS EN SUCRES SOLUBLES DES COTYLEDONS	117
VI.5 ACTIVITES AMYLASIQUES DES COTYLEDONS	118
VI.5.1 ACTIVITES AMYLASIQUES TOTALES	118
VI.5.2 ACTIVITE DES A-AMYLASES	118
VI.6 CARBONE ORGANIQUE TOTAL (COT)	120

VII. DISCUSSION - II -	123
VII.1 RESERVES COTYLEDONAIRES ET MOBILISATION DES GLUCIDES	125
VII.2 DISTRIBUTION DES RESERVES AMYLACEES DANS LES SEMIS ET TENEURS EN SUCRES SOLUBLES	130
VII.3 EQUILIBRE ENTRE ASSIMILATION, CONSOMMATION ET STOCKAGE DU CARBONE	134
VIII. RESULTATS - III -	139
VIII.1 VARIATIONS DES TENEURS EN AZOTE MINERAL DANS LE SOL RHIZOSPHERIQUE	141
VIII.1.1 EVOLUTION DES TENEURS EN AZOTE MINERAL DANS LE SOL RHIZOSPHERIQUE TEMOIN	141
VIII.1.2 EFFETS DE L'ENNOYAGE SUR LES TENEURS EN AZOTE MINERAL DANS LA RHIZOSPHERE	142
VIII.1.3 EFFETS DU DRAINAGE SUR LES TENEURS EN AZOTE MINERAL DANS LA RHIZOSPHERE	144
VIII.2 TENEURS EN NITRATE DANS LES SEMIS	144
VIII.3 ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA NITRATE REDUCTASE (NR)	146
VIII.3.1 NR RACINAIRE	146
VIII.3.2 NR FOLIAIRE	147
VIII.4 ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA GLUTAMINE SYNTHETASE (GS)	150
VIII.4.1 GS FOLIAIRE	150
VIII.4.2 GS RACINAIRE	152
VIII.5 ALLOCATION AZOTEE	152
VIII.5.1 VARIATIONS DES TENEURS EN ACIDES AMINES	152
VIII.5.2 VARIATIONS DES TENEURS EN PROTEINES	155
VIII.5.3 VARIATIONS DES TENEURS EN CHLOROPHYLLES	157
VIII.5.4 VARIATIONS DES TENEURS EN AZOTE SOLUBLE ET INSOLUBLE DANS LES DIFFERENTS ORGANES	159
IX. DISCUSSION - III -	163
IX.1 MODIFICATION DE LA DISPONIBILITE EN AZOTE DANS LA RHIZOSPHERE DES SEMIS ENNOYES	165
IX.2 ASSIMILATION DE L'AZOTE PAR LES SEMIS	166
IX.3 ALLOCATION AZOTEE	171
IX.4 EFFETS DU DRAINAGE SUR LA NUTRITION AZOTEE DES SEMIS ENNOYES	173
IX.5 IMPORTANCE DE LA NUTRITION AZOTEE CHEZ LES CHENES EXPOSES A DES CONDITIONS D'ENNOYAGE	173
X. CONCLUSIONS GENERALES	177
XI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	193
XII. ANNEXES	215
XII.1 COMPOSITION DE LA TOURBE DU SUBSTRAT DE CULTURE	217
XII.2 ANALYSE DE LA COMPOSITION MINERALE DU SUBSTRAT DE CULTURE	218

I. Introduction

L'objectif général de ce travail est de mieux comprendre les mécanismes de tolérance à l'engorgement mis en œuvre chez les ligneux.

L'engorgement du sol correspond à un excès d'eau qui sature les pores du sol. Les échanges gazeux du sol avec l'atmosphère sont drastiquement réduits par l'engorgement et l'oxygène consommé, par les racines et les microorganismes du sol, n'est plus renouvelé. Le sol entre en état d'hypoxie voire d'anoxie. Le principal stress imposé aux plantes sous engorgement est un déficit en oxygène pour les parties submergées.

Les réponses adaptatives des plantes aux stress hypoxique ou anoxique sont très diverses et complexes. Ce champ thématique de recherche, a fait l'objet de nombreuses études qui ont débuté dans les années 1970, essentiellement chez des espèces d'intérêt agronomique (Vartapetian 2005). Plusieurs stratégies d'adaptation ou de tolérance ont été décrites et plusieurs hypothèses ont été élaborées (Vartapetian 2005, Vartapetian 2006). Malgré cela, l'analyse des données bibliographiques disponibles montre que les réponses adaptatives des plantes à l'engorgement ne sont que partiellement comprises, en particulier chez les ligneux.

Contexte général

Les sols concernés par des phénomènes d'engorgement occupent des surfaces très importantes sur l'ensemble des continents. On les rencontre notamment dans les régions à pluviométrie marquée. Certaines situations particulières sont plus propices à l'hydromorphie des sols, comme les plaines alluviales le long des cours d'eau, certaines régions côtières, les fonds de vallon et plus généralement les forêts installées sur des formations géomorphologiques imperméables. Les régions relativement arides peuvent elles-mêmes présenter des excès d'eau dans le sol lors de fortes précipitations. Des phénomènes d'engorgement peuvent également affecter ponctuellement les cultures irriguées. Dans le contexte du réchauffement global de la planète, des prévisions climatiques indiquent que le régime des précipitations évolue vers une alternance de périodes marquées par de fortes pluies et par d'intenses sécheresses. Ces changements climatiques provoqueront vraisemblablement une augmentation de la fréquence et de l'intensité des inondations survenant dans le lit majeur des cours d'eau. Les activités anthropiques contribuent également à modifier les régimes hydriques. L'urbanisation croissante et les travaux de terrassement augmentent les ruissellements, les zones forestières seront de plus en plus souvent utilisées comme champ d'expansion des crues.

La plus ou moins grande disponibilité en eau conditionne en grande partie la succession d'unités de végétation (Rameau *et al.* 1993). L'état hydrique d'un milieu peut être très sec en permanence, sec, bien drainé, légèrement humide, ou inondé en permanence. Les milieux extrêmes sont les plus contraignants. La présence d'une forte humidité, permanente ou même temporaire, a des conséquences sur la végétation. La fréquence, la durée totale, l'intensité et la saison d'apparition des excès d'eau dans le sol modulent les cortèges floristiques (Siebel et Blom 1998, Lopez et Kursar 1999, Parolin *et al.* 2004, Vreugdenhil *et al.* 2006).

Les sols temporairement ennoyés sont difficilement valorisables par l'agriculture et ils ont donc souvent été laissés à la forêt. En France, les parcelles forestières qui subissent des phénomènes d'ennoyage temporaire représentent près de 2 millions d'hectares (Lévy et Lefèvre 2001), pour environ 15,5 millions d'hectares de forêt au total.

La tolérance des ligneux à l'ennoyage varie considérablement selon l'espèce, les réserves racinaires et l'âge des plants et aussi selon les caractéristiques du site (Kozłowski 1997). Les jeunes semis sont particulièrement sensibles à l'ennoyage. La germination des graines est inhibée ou retardée puis la survie des jeunes semis est souvent limitée (Streng *et al.* 1989, Angelov *et al.* 1996, Guo *et al.* 1998, Kozłowski 2002, Walls *et al.* 2005). L'ennoyage exerce donc une pression sélective sur la régénération des peuplements forestiers.

Le manque d'oxygène est un stress qui affecte directement le fonctionnement physiologique des plantes, essentiellement en modifiant le métabolisme énergétique cellulaire des racines ennoyées qui ne disposent plus d'oxygène pour la respiration. La production d'énergie passe alors par d'autres procédés, notamment la glycolyse suivie d'autres processus fermentaires (Drew 1997, Vartapetian et Jackson 1997, Gibbs et Greenway 2003). Dans ces conditions, les plantes doivent mettre en place des stratégies de tolérance pour survivre. Certaines stratégies visent à ajuster le métabolisme au manque d'oxygène, alors que d'autres stratégies permettent d'éviter ou de diminuer le stress hypoxique cellulaire par l'apport d'oxygène aux organes ennoyés (Vartapetian et Jackson 1997, Blom 1999). Les premières réponses touchent essentiellement le métabolisme énergétique et glucidique, qui se mettent en place très rapidement, dans les heures qui suivent l'application du stress. A plus long terme, chez les espèces les plus tolérantes, des réponses d'ordre morphologiques se mettent en place, notamment les racines d'adaptation (Kozłowski 1997). Les phénomènes d'ennoyage affectent en premier lieu la croissance racinaire mais ce stress a aussi des répercussions sur la croissance et le développement de la plante toute entière. Généralement, les relations hydriques sont affectées par la dégradation du système racinaire et de ses capacités d'absorption de l'eau, la baisse de la conductivité hydraulique qui s'en suit s'accompagne souvent d'un déficit hydrique (McLeod *et al.* 1999, Else *et al.* 2001, Nicolás *et al.* 2005). Différents travaux ont également montré que l'ennoyage cause une forte réduction de la conductance stomatique et de l'assimilation nette de carbone (Dreyer *et al.* 1991, Pezeshki *et al.* 1996b, Wagner et Dreyer 1997, Schnull et Thomas 2000). Pour ces différentes raisons, l'ennoyage réduit la productivité de nombreuses espèces.

Problématique et objectifs

Ce travail a été réalisé dans le but d'identifier des processus physiologiques de tolérance à l'ennoyage chez les chênes. Les deux espèces étudiées sont le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et le chêne sessile (*Quercus petraea* [Matt] Liebl.). Ces deux essences forestières sont communes en Europe et sont les feuillus les plus répandus en France. Elles partagent des aires de répartitions relativement proches et présentent de nombreuses similitudes d'ordre écophysiologique mais, néanmoins, elles se différencient par certaines exigences écologiques.

En effet, le chêne pédonculé affectionne les stations humides et présente une relativement bonne tolérance à l'ennoyage, quant au chêne sessile, il supporte mieux la sécheresse mais il est plus sensible à l'ennoyage (Dreyer *et al.* 1991, Wagner et Dreyer 1997, Schmull et Thomas 2000, Shahriari 2003, Parelle *et al.* 2006). Bien que la tolérance à l'ennoyage du chêne pédonculé et du chêne sessile ait fait l'objet de plusieurs études, les mécanismes à l'origine de la meilleure tolérance du chêne pédonculé restent mal compris.

Ce travail, réalisé à l'échelle de la plante entière, a pour objectif de donner la vision la plus complète possible des effets de l'ennoyage sur les paramètres physiologiques étudiés. Les cultures des semis sont réalisées en conditions contrôlées. Afin d'obtenir des réponses suffisamment marquées entre les deux espèces, l'application du stress est réalisée en maintenant une nappe d'eau au niveau de la surface du sol pendant plusieurs mois. Au vu des espèces étudiées, il s'agit d'un stress d'intensité élevée mais néanmoins réaliste. Le choix expérimental s'est porté sur l'utilisation de très jeunes semis, au cours d'une phase cruciale : la mise en place des deux premières vagues de croissance. Chez les ligneux en conditions d'ennoyage, il n'existe pas d'informations précises sur le comportement et le rôle des cotylédons. Un point important de cette étude consiste à évaluer l'aptitude des semis ennoyés à restaurer un fonctionnement analogue aux témoins suite à un drainage effectué après le développement du premier étage foliaire. Ce travail contribue ainsi à l'étude de la régénération naturelle des essences forestières soumises à des phénomènes d'ennoyage temporaires. En outre, tout progrès dans la connaissance des différences interspécifiques de tolérance à l'ennoyage chez le chêne pédonculé et le chêne sessile contribue à la compréhension de la répartition écologique de ces deux essences forestières. Ces connaissances participent également à l'élaboration d'outils d'aide à la décision pour les sylviculteurs.

Ce manuscrit est organisé en trois volets, précédés d'une synthèse bibliographique et suivis d'une conclusion générale. Le premier volet concerne les réponses de développement et de croissance des jeunes semis de chêne face à l'ennoyage. Ces réponses sont indispensables pour interpréter les résultats qui font l'objet des deux volets suivants et qui traitent respectivement de la gestion des glucides et de la nutrition azotée en conditions d'ennoyage.

(I) Développement, croissance aérienne et architecture racinaire des jeunes semis

Dans un premier temps nous avons caractérisé les réponses de développement et de croissance des semis face à l'ennoyage. Ces réponses permettent d'évaluer les capacités d'installation des jeunes semis dans ces conditions de stress. Chez les arbres, le maintien de la croissance racinaire, la mise en place de nouvelles racines, notamment superficielles, sont connues pour être des caractéristiques importantes assurant la survie en conditions d'ennoyage du sol (Kozlowski 1997).

Une des questions à laquelle nous essayons d'apporter des réponses est la suivante : y-a-t-il des réponses morphologiques différenciant le chêne pédonculé et le chêne sessile dès les premiers stades de croissance des jeunes semis exposés à des conditions d'ennoyage ?

Les taux de développement du premier et du second étage des semis de chênes ont été mesurés. L'accumulation de biomasse dans les différents organes, l'accroissement en longueur des tiges, les surfaces foliaires et le taux de croissance relatif des semis ont également été étudiés. Enfin, l'architecture racinaire des semis a été caractérisée en détail, en déterminant la distribution spatiale et l'élongation de l'ensemble de leurs racines latérales.

(II) Gestion des réserves glucidiques et importance des cotylédons

Les réserves cotylédonaire constituent la seule source d'hydrates de carbone à partir desquelles le semis met en place un système racinaire et un appareil aérien pour assurer son autotrophie. De plus, chez ces espèces pérennes, il est indispensable de constituer de larges réserves glucidiques afin que l'appareil végétatif soit en mesure de résister à la mauvaise saison. Or, les phénomènes d'ennoyage mettent directement en jeu les hydrates de carbone. Le contrôle des réserves carbonées et du métabolisme énergétique sont connus pour jouer un rôle clé dans l'adaptation des arbres à l'ennoyage (Kreuzwieser *et al.* 2004). Cependant, les changements métaboliques énergétiques qui se mettent en place sous hypoxie sont nettement moins efficaces que la respiration. De plus, l'ennoyage inhibe l'assimilation du carbone (Dreyer *et al.* 1991). Bien souvent, après avoir consommé les sucres solubles disponibles *in situ*, les cellules racinaires en conditions hypoxiques souffrent plus de la pénurie de glucides que du manque direct en oxygène. Différents arguments montrent que la tolérance à l'ennoyage des arbres pourrait être liée à leur gestion des substrats glucidiques, notamment des réserves amylacées, et leur capacité à maintenir l'accessibilité à des ressources énergétiques abondantes pour les racines (Angelov *et al.* 1996, Gravatt et Kirby 1998, Islam et Macdonald 2004, Kreuzwieser *et al.* 2004).

Une des principales questions qui se posent est de savoir comment les jeunes semis vont gérer leurs réserves glucidiques pour se développer et survivre au stress d'une part et constituer des réserves suffisantes pour assurer leur pérennité d'autre part.

Est-ce que la gestion des réserves glucidiques contribue à la différence de tolérance à l'ennoyage qui existe entre les deux espèces de chênes étudiées ?

La répartition des réserves amylacées et des sucres solubles entre les différents organes et leur importance ont été étudiées, ainsi que les capacités de mobilisation des réserves cotylédonaire, notamment par des mesures d'activités des enzymes amylasiques.

(III) Nutrition azotée

Les microorganismes du sol sont des acteurs essentiels de la biodisponibilité des éléments minéraux. En aérobie, ils participent activement à la nutrition minérale des plantes mais ils

sont très sensibles aux variations des teneurs en oxygène. De très nombreux organismes bactériens sont à anaérobie facultative. Dès que la teneur en oxygène chute, il y a alors un glissement réversible des métabolismes bactériens aérobie vers des métabolismes anaérobies (Duchaufour 2001, Gobat *et al.* 2003). En l'absence d'oxygène, les bactéries à métabolisme anaérobie effectuent globalement les réactions inverses à celles observées en aérobiose (Gobat *et al.* 2003). Ainsi, l'ennoyage du sol engendre de profonds changements de sa composition minérale. Chez les chênes, les deux formes d'azote directement assimilables sont le nitrate et l'ammonium dont la disponibilité est fortement modifiée par l'ennoyage. En effet, la première conséquence de l'absence d'oxygène est l'apparition de processus de réduction du nitrate (Bonneau et Souchier 1994). Les nitrates sont rapidement utilisés par de nombreuses communautés bactériennes et deviennent indisponibles pour les semis. Toutefois, pendant l'ennoyage les activités bactériennes peuvent également entraîner une augmentation des teneurs en ammonium (Gobat *et al.* 2003). Ces modifications peuvent avoir des répercussions sur l'assimilation et l'allocation azotée des arbres. Sous ennoyage, la détérioration du métabolisme azoté des arbres semble corrélée à leur sensibilité à ce stress (Kreuzwieser *et al.* 2002).

On se demande alors quelles sont les répercussions des changements de la disponibilité des éléments minéraux azotés sur l'assimilation et l'allocation azotée des semis et notamment si les semis ennoyés peuvent compenser la disparition des nitrates par l'assimilation de l'ammonium.

Est-ce que, dans ces conditions, la nutrition azotée contribue à la différence de tolérance à l'ennoyage qui existe entre les deux espèces de chênes étudiées ?

Les capacités des deux chênes à assimiler ces deux formes d'azote en conditions d'ennoyage ont été étudiées à travers la mesure des activités des deux enzymes clés de la nutrition azotée : la nitrate réductase et la glutamine synthétase. Quant à l'étude des teneurs en azote total, soluble et insoluble, en acides aminés et en protéines, elle permet d'estimer l'allocation azotée.

L'objectif de mon travail de recherche doctorale a consisté à identifier des processus physiologiques, essentiellement au niveau de la gestion des glucides et de la nutrition azotée, qui rendent compte de la survie et de la tolérance à l'ennoyage chez les chênes, par la recherche de différences interspécifiques entre deux espèces qui diffèrent dans leur tolérance à ce stress.

II. Synthèse

bibliographique

II.1 Le chêne pédonculé et le chêne sessile

Les chênes : diversité et importance

Les chênes sont des angiospermes dicotylédones du genre *Quercus*. Ils appartiennent à la famille des Fagacées, de l'ordre des Fagales. Les chênes sont présents dans de très nombreuses régions du globe. En effet, le genre *Quercus* comporte environ 450 espèces qui couvrent l'ensemble de l'hémisphère nord, allant des forêts tempérées et tropicales aux formations arbustives et semi désertiques (Kleinschmit 1993, Nixon 1993). Le nombre d'espèces indigènes diminue depuis les latitudes méridionales jusqu'aux latitudes nordiques, conformément à l'origine tropicale de l'espèce (Nixon 1993). En Europe une vingtaine de chênes se répartissent sur un éventail de sites très variés. Ce sont des espèces à feuilles caduques ou persistantes, peuplant aussi bien les écosystèmes forestiers, les plaines d'inondation le long des fleuves, des milieux sec et méditerranéen que les régions montagneuses. Ces espèces présentent une grande importance économique et écologique. En Europe, la majorité des ligneux à feuilles caduques sont représentés par des chênes. En France, il existe neuf espèces de chênes : *Quercus petraea*, *Q. robur*, *Q. pyrenaica*, *Q. ilex*, *Q. rubra*, *Q. suber*, *Q. coccifera* et *Q. cerris*. La distribution de ces espèces est fonction de la variété des conditions écologiques rencontrées en France, notamment de la diversité climatique (Timbal et Aussenac 1996).

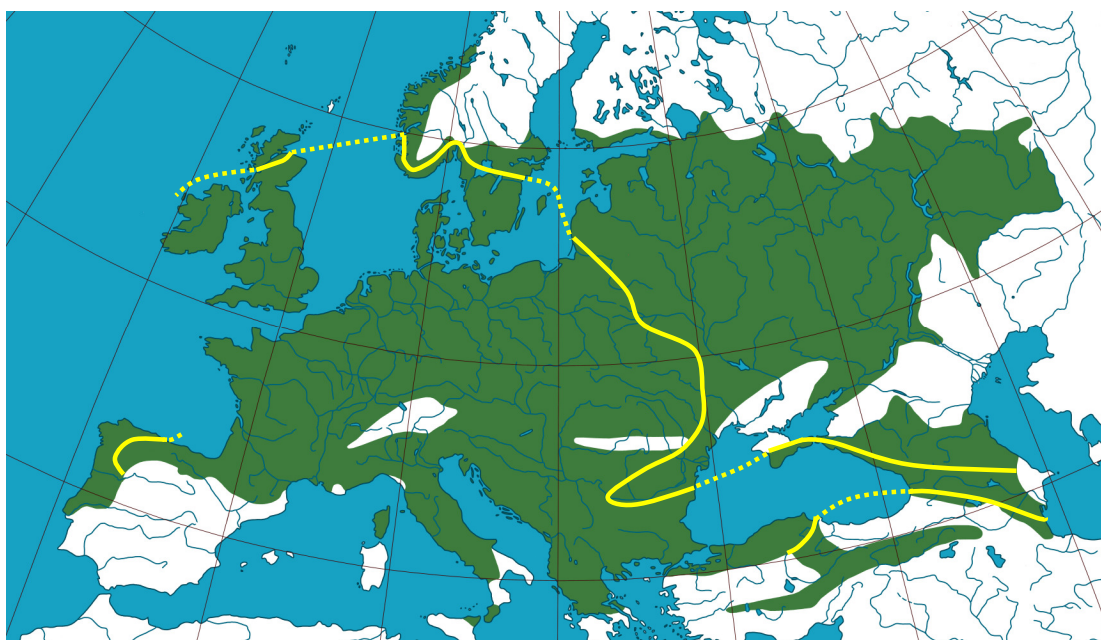


Figure SB-1. Aire géographique de la répartition naturelle du chêne pédonculé et du chêne sessile. L'aire de répartition du chêne pédonculé est colorée en vert et celle du chêne sessile y est incluse, délimitée par le tracé.

Pour leur intérêt économique, les chênes ont été favorisés par les forestiers, notamment le chêne sessile et le chêne pédonculé, parfois au détriment d'autres espèces. Le chêne

pédonculé et le chêne sessile présentent des qualités sylvicoles particulièrement intéressantes. Ces essences forestières ont notamment une capacité de production élevée et elles fournissent un bois de grande qualité, aux applications multiples (Timbal et Aussenac 1996). Le chêne pédonculé et le chêne sessile ont souvent été mélangés en peuplement avec l'apparition de nombreux hybrides (Bacilieri *et al.* 1993). Ce sont deux espèces ligneuses sympatriques et inter-fertiles qui sont génétiquement très proches. Il existe en effet des flux génétiques importants entre ces deux espèces (Ducouso *et al.* 1993). Le chêne pédonculé et le chêne sessile ont tous deux une très large amplitude écologique et climatique. Ces deux espèces sont communes de l'Europe de l'ouest. L'aire naturelle du chêne pédonculé s'étend de l'Irlande à l'Oural, du nord-ouest de la péninsule Ibérique au sud de la Scandinavie. L'aire naturelle du chêne sessile est incluse dans celle du chêne pédonculé mais s'arrête à l'est vers la frontière ukrainienne (Figure SB-1, Kleinschmit 1993).

Le chêne est l'essence feuillue la plus répandue en France. Elle y représente près du tiers de la surface boisée avec 3 millions de m³ de bois d'œuvre annuellement exploités (Preney *et al.* 1997). La surface de la chênaie française est estimée à 4 800 000 ha, soit 40% de la superficie forestière, dont 13% pour le chêne sessile avec 1 600 000 ha et 17,5% pour le chêne pédonculé avec 2 100 000 ha (Ducouso *et al.* 2004). La forte présence du chêne pédonculé a vraisemblablement été favorisée par les activités sylvicoles. Pendant longtemps, des opérations sylvicoles classiques, en futaie dense, ont été menées indifféremment sur le chêne sessile comme sur le chêne pédonculé. Ces deux espèces présentent pourtant des exigences écologiques et sylvicoles différentes mais celles-ci ont été mises en évidence que récemment (Becker et Lévy 1990). L'utilisation de ces deux essences forestières sans distinction a favorisé l'apparition de dépérissements dans les peuplements hors station et de nombreux défauts d'un point de vue économique.

Caractères botaniques

Le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et le chêne sessile (*Quercus petraea* [Matt] Liebl.) sont des arbres avec un grand tronc rectiligne, robuste et un houppier irrégulier. Ils atteignent 35 m de hauteur et vivent plusieurs centaines d'années. Les rameaux sont grêles, bruns verdâtres, légèrement pulvérulents à feuilles alternes. Les feuilles ont de 5 à 12 cm de longueur avec 3 à 12 lobes arrondis. Les fleurs sont unisexuées. Les fleurs mâles, en longs chatons pendants, se trouvent à la base des jeunes pousses. Les fleurs femelles sont minuscules, à l'aisselle des feuilles des pousses de l'année.

La discrimination taxonomique des deux espèces est principalement basée sur l'examen des fructifications, notamment la longueur des pédoncules floraux (Figure SB-2). Chez le chêne pédonculé (*Q. robur*), les glands sont attachés à des pédoncules de 3 à 8 cm de longueur, alors que chez le chêne sessile (*Q. petraea*), les glands sont sessiles ou portés par un pédoncule très court. La morphologie foliaire est également utilisée, notamment lorsque les fruits sont absents. Dans les peuplements européens, en se basant sur des critères morphologiques foliaires, dans la plupart des cas il est possible de distinguer deux phénotypes

bien marqués qui correspondent aux deux espèces *Q. robur* et *Q. petraea* (Dupouey et Badeau 1993, Kremer *et al.* 2002, Ponton *et al.* 2004).

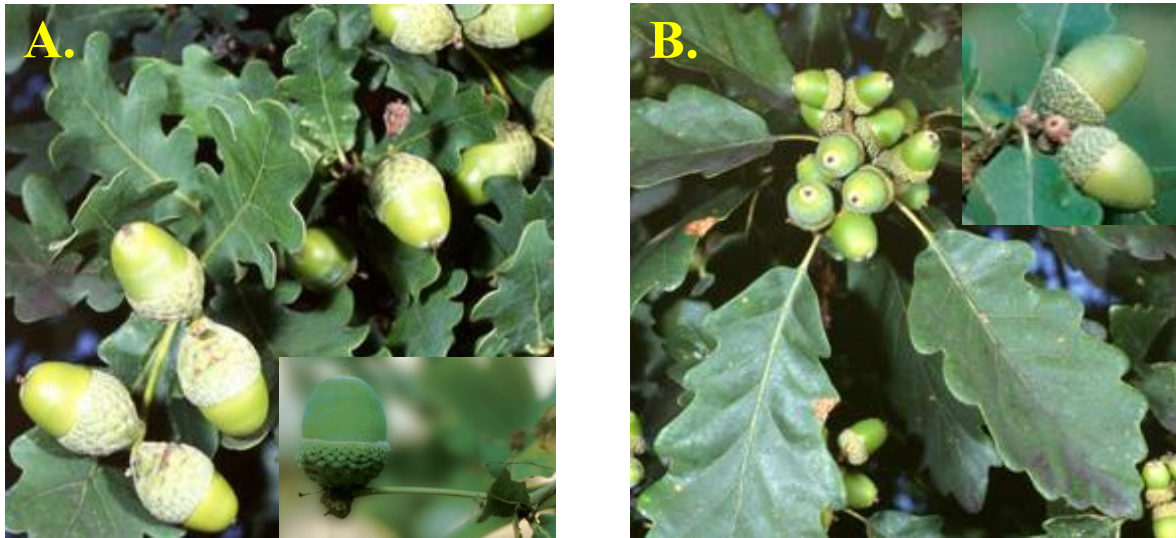


Figure SB-2. Feuilles et fructifications chez le chêne pédonculé (A) et chez le chêne sessile (B).

Des exigences écologiques différentes

Souvent confondues et indifféremment utilisées, ces deux espèces de chêne se distinguent néanmoins par leurs réponses écophysologiques aux facteurs environnementaux. Ainsi, *Q. robur* et *Q. petraea*, qui partagent quasiment les mêmes aires géographiques, présentent en réalité une distribution liée à leurs exigences écologiques respectives. Le chêne pédonculé est une espèce héliophile dite nomade par son comportement pionnier. Il est associé aux biotopes et formations végétales suivantes : bois, friches, haies et accrus, forêts ripicoles, forêts collinéennes fraîches à très fraîches (Rameau *et al.* 1993). Les traitements en taillis et en taillis-sous-futaie lui sont favorables. Le chêne sessile est quant à lui une espèce postpionnière de demi-ombre. Il est associé aux biotopes et formations végétales suivantes : bois en peuplement pur ou en mélange avec le chêne pédonculé, le charme ou le hêtre ; forêt calcicole, acidiline collinéenne, acidiphile, xérothermophile (Rameau *et al.* 1993).

Le chêne sessile est une essence rustique alors que le chêne pédonculé est une espèce plus exigeante qui supporte moins bien la concurrence. Le chêne pédonculé a besoin de plus d'eau, de lumière et d'éléments minéraux. La répartition des deux espèces est essentiellement liée aux caractéristiques du sol et plus particulièrement à son régime hydrique. L'optimum écologique du chêne sessile, espèce mésoxérophile à mésophile, se situe dans les sols acides profonds et bien drainés alors que celui du chêne pédonculé, espèce mésohygrophile, se situe dans les sols acides riches et bien alimentés en eau, en terrain alluvial parfois mal drainé, où les stations hydromorphes à engorgement temporaire sont fréquentes (Lévy *et al.* 1992, Rameau *et al.* 1993).

Les effets simples ou combinés de stress abiotiques (pollution atmosphérique, températures extrêmes, stress chimique du sol...) et biotiques (défoliations entomologiques, attaques de xylophages, infections de champignons pathogènes...) ont des conséquences généralement plus délétères pour le chêne pédonculé que pour le chêne sessile (Thomas *et al.* 2002). Comparé au chêne sessile, le chêne pédonculé est plus particulièrement sensible aux stress hydriques (Becker et Lévy 1986 Cochard *et al.* 1992, Bréda *et al.* 1993, Epron et Dreyer 1993, Thomas et Hartmann 1998, Ponton *et al.* 2001). En revanche, face à un excès d'eau dans le sol, le chêne pédonculé présente une plus grande tolérance que le chêne sessile (Dreyer *et al.* 1991, Wagner et Dreyer 1997, Schnull et Thomas 2000, Parelle *et al.* 2006).

II.2 Les phénomènes d'ennoyage

Ennoyage, hydromorphie et hypoxie du sol

L'ennoyage du sol est un excès d'eau qui correspond à la saturation de la porosité du sol par l'eau. L'atmosphère du sol est alors remplacée par de l'eau.

Si des phénomènes d'ennoyage temporaire sont récurrents sur un site donné, ils peuvent donner naissance à des sols hydromorphes. Ces sols présentent un profil pédologique bien particulier. Un sol hydromorphe est défini comme un sol dont les caractéristiques morphologiques, physico-chimiques, hydriques et biologiques sont déterminées par une évolution et un fonctionnement climacique dominé par l'effet d'un excès d'eau qui sature la porosité. L'hydromorphie est la manifestation morphologique de l'engorgement par l'eau sous forme de colorations, de taches de rouilles ou de concrétions, résultant de la dynamique d'oxydo-réduction du fer et du manganèse (Duchaufour 2001). L'engorgement peut être temporaire ou permanent, il peut concerner une partie ou la totalité du profil.

L'hypoxie est un état qui caractérise les sols sous ennoyage. Lorsque les pores du sol sont gorgés d'eau, l'oxygène consommé par les racines et les microorganismes n'est plus suffisamment renouvelé. En effet, les taux de diffusion des gaz dans l'eau sont 10 000 fois plus faibles que dans l'air et, par conséquent, les échanges gazeux entre le sol et l'air sont drastiquement réduits. Il s'en suit rapidement un déficit en oxygène qui conduit à l'hypoxie ou l'anoxie. Ce phénomène se rencontre plus singulièrement dès que les propriétés du sol ne permettent plus la diffusion des gaz. Ainsi, la compaction du sol peut largement y contribuer (Watson et Kelsey 2006). La disparition de l'oxygène induit une baisse concomitante du potentiel d'oxydo-réduction (Eh) du milieu. Eh correspond à l'énergie potentielle (mV) liée aux rapports de concentration entre réducteurs et oxydants des différents couples redox. C'est un bon indicateur du niveau d'oxydation / réduction du sol. Le Eh du sol n'est donc pas uniquement lié à la concentration en oxygène, mais à l'ensemble des couples redox des éléments chimiques présents. La mesure d'Eh d'un sol permet cependant d'en évaluer facilement le niveau d'aération. Un sol aéré a des valeurs d'Eh comprises entre +400 et +800

mV. Lorsque les valeurs d'Eh chutent de +400 à 0 mV le milieu devient réducteur et le sol est considéré sous hypoxie. Entre 0 et -300 mV le milieu est anoxique (Duchaufour 2001).

La disparition de l'oxygène - hypoxie ou anoxie - constitue la principale contrainte imposée par l'ennoyage aux microorganismes du sol et aux plantes.

Importance des phénomènes d'ennoyage

Les sols soumis à des phénomènes d'ennoyage ponctuels ou irréguliers occupent des surfaces très importantes à l'échelle de la planète (Setter et Waters 2003). Ils s'observent notamment dans les régions à pluviométrie marquée. Dans les régions tempérées, ces phénomènes s'observent essentiellement en hiver et au printemps. Les phénomènes d'ennoyage restent néanmoins localisés. Ils dépendent beaucoup des propriétés du sol, de la topographie, des aléas climatiques et des activités anthropiques. Certaines situations y sont plus propices, comme le long des cours d'eau des plaines alluviales, certaines régions côtières, les fonds de vallon et plus généralement les terrains avec des formations géomorphologiques imperméables. Il est donc possible de rencontrer ce type de phénomène dans de nombreuses régions du monde. Même les régions relativement arides peuvent présenter des excès d'eau temporaires dans le sol, pendant des épisodes de fortes précipitations. Des phénomènes d'ennoyage peuvent également affecter ponctuellement les cultures irriguées. Plusieurs millions d'hectares de sols agricoles à travers le monde subissent chaque année des phénomènes d'ennoyage (Setter et Waters 2003).

De nombreuses actions anthropiques contribuent à amplifier l'ennoyage des sols. Certaines activités liées à l'aménagement du territoire, telles que les modifications de cours d'eau, la création de digue de protection des zones urbaines, la canalisation des cours d'eau perturbent considérablement les régimes hydriques fluviaux. L'urbanisation en expansion, les travaux de terrassements et l'imperméabilisation croissante des sols augmentent considérablement les ruissèlements. Les opérations de drainage des sols entraînent également des excès d'eau en aval. Dans l'ensemble, suite à ces perturbations les écoulements d'eau prennent de plus en plus des formes torrentielles.

Des prévisions climatiques indiquent que le régime des précipitations évolue vers une alternance de périodes marquées par de fortes pluies et par d'intenses sécheresses. Les changements climatiques en cours provoqueront vraisemblablement une augmentation de la fréquence et de l'intensité des ennoyages temporaires (Sedjo et Sohngen 1998). Les surfaces soumises à des ennoyages temporaires devraient vraisemblablement augmenter dans les années à venir.

Les écosystèmes forestiers sont particulièrement exposés aux excès d'eau dans le sol (Badeau *et al.* 1999). Les sols engorgés sont très contraignants pour les végétaux et ils sont donc difficilement exploitables par l'agriculture. Par conséquent, ces sols sont souvent réservés à des usages sylvicoles. De plus, des zones forestières sont de plus en plus souvent utilisées comme champ d'expansion des crues. Dans les années à venir, les forêts tempérées pourraient subir de très fortes variations d'alimentation en eau. Les zones forestières de

l'hémisphère nord dont le climat devient de plus en plus océanique sont plus particulièrement concernées. Depuis une dizaine d'année, les surfaces forestières qui y subissent des phénomènes d'ennoyage ont significativement augmenté (Crawford *et al.* 2003). En France, près de deux millions d'hectares de sols forestiers sont concernés par des phénomènes d'ennoyage temporaire (Lévy et Lefèvre 2001). Ils peuvent avoir lieu sur une grande diversité de stations, être confinés ou au contraire affecter de grandes surfaces. De plus, les niveaux atteints par les nappes peuvent être très variables. La présence d'un excès d'eau en profondeur est difficilement détectable si l'on ne procède pas à l'étude pédologique de la station (par la réalisation d'une fosse).

II.3 Modifications fonctionnelles du sol en conditions d'ennoyage

Le sol constitue une ressource essentielle pour de très nombreux végétaux. Il constitue le milieu d'ancrage du système racinaire. Il joue un rôle essentiel en tant que réservoir minéral pour la nutrition des plantes. Le sol est un milieu complexe qui comprend des matières organiques, de l'humus, des argiles, des éléments grossiers siliceux ou calcaires, de l'eau des éléments minéraux sous différentes formes (bio-disponibles ou non) et une atmosphère. De plus, le sol abrite une grande variété de microorganismes qui contribuent largement à la transformation des éléments du sol. Certains composés non assimilables ou indisponibles pour les plantes deviennent directement assimilables par les racines. Les microorganismes, bactéries et champignons, interviennent massivement dans la décomposition biochimique de la matière organique morte (notamment du genre *Actinomycète*). L'oxydation et la réduction de substances minérales sont essentiellement le fait des bactéries. Elles interviennent sur l'altération des roches et la néoformation de minéraux (c'est le cas des bactéries du genre *Thiobacillus*) et sur la mise en solution de nutriments minéraux (comme la libération de Mg^{2+} et de K^+). La dissolution des oxydes et hydroxydes de fer cristallisés du sol se fait également essentiellement par la voie biologique (Lefebvre-Drouet et Rousseau 1995).

L'ennoyage du sol a un impact direct sur l'ensemble des communautés microbiennes qui y vivent. Les métabolismes bactériens dépendent des teneurs en oxygène et sont donc sensibles aux phénomènes d'ennoyage. Les communautés bactériennes du sol sont variées et elles présentent de très nombreuses stratégies nutritionnelles. Les bactéries peuvent rester en dormance ou se développer en fonction des conditions du milieu et selon leur métabolisme (aérobie stricte, anaérobie facultative, anaérobie stricte). Lors d'une transition entre des conditions normoxiques et anoxiques, les bactéries utilisent les chaînes de transporteurs d'électrons qui leur sont les plus favorables sur le plan énergétique, suivant la disponibilité des substrats du milieu. Le type de métabolisme cellulaire est déterminé par la nature des accepteurs finaux des électrons respiratoires. On parle de respiration aérobie lorsqu'il s'agit de l' O_2 ou de respiration anaérobie lorsque c'est un accepteur d'électrons minéral comme NO_3^- , NO_2^- , Mn^{4+} , Fe^{3+} , SO_4^{2-} . Enfin, si l'accepteur est un composé organique, il s'agit d'une fermentation (Bonneau et Souchier 1994).

La biomasse microbienne qui se développe fortement à la périphérie des racines peut améliorer la nutrition minérale ou, au contraire, entrer en compétition avec les plantes (Gobat *et al.* 2003). Lorsque le sol est correctement aéré les bactéries nitrifiantes, comprenant les bactéries nitrifiantes et nitrifiantes, oxydent respectivement l'ammonium en nitrite et le nitrite en nitrate. Dans ce cas, certains genres comme *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* participent activement à l'amélioration de la nutrition azotée des plantes en minéralisant l'azote sous forme de nitrate, facilement assimilable (Pelmont 1993, Duchaufour 2001). Les bactéries sulfoxydantes oxydent les composés réduits du soufre en sulfate ; les bactéries ferrooxydantes oxydent le fer ferreux bivalent en oxydes et hydroxydes ferriques trivalents ; les hydrogénobactéries oxydent l'hydrogène moléculaire en eau (Gobat *et al.* 2003).

Au contraire, lorsque le sol est affecté par des excès d'eau, on observe des modifications profondes du fonctionnement biologique du sol. La composition des populations microbiennes et leurs activités évoluent. Globalement, on observe en l'absence d'oxygène les réactions inverses à la respiration aérobie. Ainsi, les bactéries à métabolisme respiratoire anaérobie, facultatif ou strict, utilisent des composés inorganiques oxydés comme accepteurs finaux des électrons respiratoires. En conditions d'ennoyage, après l'épuisement de l'oxygène par la respiration aérobie, les différents phénomènes métaboliques bactériens interviennent séquentiellement. La première conséquence de l'absence d'oxygène est l'apparition de processus de réduction du nitrate, suivie par des processus de réduction du manganèse et du fer par des bactéries chimioorganotrophes, avec un abaissement concomitant du potentiel redox (Eh) du milieu (Figure SB-3, Bonneau et Souchier 1994, Gobat *et al.* 2003).

Pour des potentiels redox de l'ordre de +450 mV (à pH 7), des processus de dénitrification se mettent ponctuellement en place chez de nombreuses espèces bactériennes à respiration anaérobie facultative. Les germes dénitrifiants sont abondants dans les sols, comme *Clostridium*, *Alcaligenes*, *Bacillus* et plus particulièrement *Pseudomonas* dans la rhizosphère (Pelmont 1993). Les phénomènes de dénitrification y sont très courants (Pu *et al.* 1999) et s'observent dès que le taux d'oxygène diminue localement, comme au voisinage de la rhizosphère (Prade et Trolldenier 1990a, b). On distingue la dénitrification dissimilatrice (où le nitrate n'est pas assimilé) de la dénitrification assimilatrice, mais les deux ne sont pas exclusives l'une de l'autre. Les bactéries dénitrifiantes dissimilatrices réduisent le nitrate en azote moléculaire N₂, N₂O gazeux (Gobat *et al.* 2003), ce qui peut représenter une perte d'azote importante dans les milieux soumis à de longues périodes d'ennoyage (Xing *et al.* 2002). En revanche, la nitrification (par des bactéries anaérobies strictes ou facultatives) est la réduction du nitrate en ammonium qui n'est pas perdu.

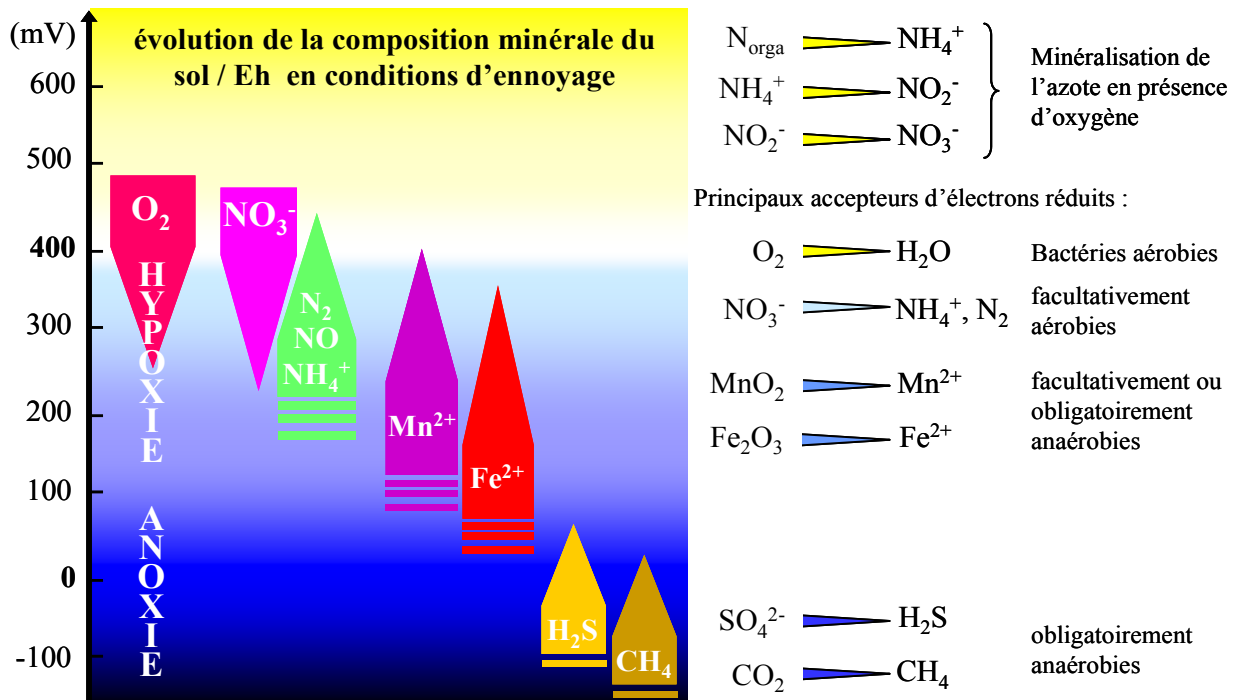


Figure SB-3. Evolution de la composition minérale du sol et du potentiel redox en conditions d'ennoyage. Les bactéries utilisent les chaînes de transporteurs d'électrons qui leur sont les plus favorables sur le plan énergétique. Après l'épuisement de l'oxygène par la respiration aérobie, différents phénomènes métaboliques bactériens interviennent séquentiellement, entraînant des changements de la composition minérale avec un abaissement concomitant du potentiel d'oxydoréduction.

Entre +330 et +220 mV, l'oxygène et les nitrates ont quasiment disparu (Figure SB-3). Le Mn^{4+} peut être utilisé dès +450 mV et vers +150 mV les phénomènes de ferriréduction deviennent prépondérants. Les activités bactériennes en anaérobiose sont responsables d'une forte solubilisation des oxydes de Fe et de Mn, par respiration anaérobie et par fermentation (Quantin *et al.* 2001). Le fer abonde dans les sols sous formes d'oxydes peu solubles comme l'hématite, Fe_2O_3 et d'hydroxydes, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (Duchaufour 2001). Ces éléments sont de relativement bons accepteurs d'électrons. Ainsi, dans un environnement anaérobie, la réduction dissimilatrice (extracellulaire) du fer, Fe^{3+} en Fe^{2+} , est utilisée par de nombreuses bactéries, anaérobies facultatives ou strictes, par voie fermentaire (*Clostridium*, *Bacillus*) ou par respiration anaérobie (*Desulfuromonas*, *Geobacter*... ; Pelmont 1993). Selon les caractéristiques des sols, les quantités de fer réduit et soluble, qui sont alors disponibles pour les plantes, peuvent augmenter très fortement en conditions d'hypoxie (Velázquez *et al.* 2005).

Lorsque le Eh est aux alentours de 0, ou atteint des valeurs négatives, on observe des phénomènes de réduction du soufre (sulfatoréduction) réalisés par des bactéries anaérobies sulfatoréductrices, qui utilisent également des métabolites (alcools, acides organiques) issus des phénomènes de fermentation (Gobat *et al.* 2003). Ces réactions peuvent entraîner la formation de précipités de sulfure de fer, FeS (Duchaufour 2001). Pour finir, dans les cas extrêmes où les valeurs du Eh sont très faibles, des phénomènes de méthanogenèse se rencontrent et entraînent la formation de méthane.

II.4 Réponses des plantes à l'ennoyage

Pour de nombreuses espèces végétales, les phénomènes d'ennoyage du sol créent des conditions physicochimiques peu propices à leur développement. Ces phénomènes affectent les plantes à différents niveaux. Ils influencent la distribution des espèces et peuvent modifier la composition des peuplements ligneux (Blom 1999, Kozlowski 1997). Les conséquences les plus visibles s'observent au niveau de la croissance et du développement aérien des plantes. La croissance est souvent inhibée ou fortement réduite. Selon les espèces, des modifications anatomiques, notamment racinaires, se mettent en place. Certaines réponses ont un rôle adaptatif et permettent la survie mais, chez de nombreuses espèces, après seulement quelques jours d'ennoyage le taux de mortalité est élevé. Les premiers organes touchés sont les racines qui montrent d'importantes perturbations physiologiques. L'alimentation hydrique, minérale et gazeuse est affectée, ce qui a des répercussions sur la plante entière, notamment au niveau de la photosynthèse (Kozlowski 1997, Vartapetian et Jackson 1997, Pezeshki 2001). Le principal stress imposé aux plantes ennoyées est un déficit en oxygène qui inhibe la respiration. A l'échelle cellulaire la production d'énergie devient critique ; des processus tels que l'ajustement osmotique et la régulation du pH cytosolique sont alors affectés (Greenway et Gibbs 2003). Ce stress entraîne une réponse moléculaire qui accompagne de profondes modifications métaboliques (Gibbs et Greenway 2003, Vartapetian 2005). Les réponses des plantes aux phénomènes d'ennoyage sont variées et complexes. Certaines réponses se mettent en place très rapidement, dans les heures qui suivent l'ennoyage, alors que d'autres s'observent seulement après plusieurs jours de stress. Elles s'enchaînent ou, au contraire, prennent place simultanément. Finalement, les réponses des plantes à l'ennoyage peuvent être décrites suivant les différents niveaux d'organisation : de l'écosystème à la molécule.

II.4.1 Différentes stratégies adoptées face aux phénomènes d'ennoyage

L'ennoyage des sols est un stress qui impose une contrainte hypoxique aux plantes. La résistance à cette contrainte varie grandement en fonction des espèces. Les plantes présentent différentes stratégies de résistance à l'ennoyage, qui ne sont pas exclusives les unes des autres. L'échappement qui permet de ne pas être exposé au stress, l'évitement qui permet de réduire l'intensité du stress qui s'applique au niveau de ses tissus et la tolérance où le stress est subi mais supporté.

Certaines espèces échappent aux phénomènes stressants en ajustant leur cycle de développement de manière à esquiver les conditions défavorables. Les plantes ne développent un appareil végétatif fonctionnel et métaboliquement actif que pendant les périodes environnementales propices. Face aux phénomènes d'ennoyage irréguliers, cette stratégie est difficilement applicable.

L'évitement du stress est une stratégie plus courante chez les plantes. Elles développent alors des mécanismes physiques (adaptations morphologiques) chimiques, métaboliques de

protection, qui leurs permettent d'éviter, au moins partiellement, les conditions défavorables. En conditions d'ennoyage, il s'agit notamment d'approvisionner les racines en oxygène afin de diminuer ou d'éviter la contrainte hypoxique.

Lorsque les plantes subissent le stress sans pouvoir l'éviter, elles peuvent développer des aptitudes à tolérer la contrainte. Ainsi, certaines plantes exposées à des conditions d'ennoyage tolèrent le déficit en oxygène en développant des adaptations qui réduisent l'impact du manque d'oxygène. La tolérance à l'ennoyage nécessite notamment la réorganisation du métabolisme afin de fonctionner sans oxygène. Dans ce cas, le métabolisme énergétique joue un rôle clé ; avec la stimulation des voies glycolytiques et fermentaires, en remplacement de la respiration, et l'approvisionnement en hydrates de carbone.

Les adaptations qui visent à réduire le stress -stratégie d'évitement- sont souvent insuffisantes pour permettre d'approvisionner les parties racinaires ennoyées en quantités suffisantes d'oxygène. De plus, chez de nombreuses espèces, ces adaptations ne sont pas présentes avant l'exposition au stress. Ce type de réponse peut alors se mettre en place lentement, après plusieurs jours de stress. Face à l'ennoyage, de nombreuses plantes présentent rapidement des réponses de tolérance. Ensuite, à plus long terme, chez les espèces les moins sensibles il est courant d'observer la mise en place de réponses adaptatives qui mettent en jeu des stratégies d'évitement. Ainsi, des adaptations d'évitement peuvent permettre d'améliorer la tolérance de la plante. Les différentes stratégies mises en place par les plantes face à ce stress sont très variables selon les espèces. Selon Vartapetian 2005), il n'existe pas de mécanisme universel d'adaptation des plantes au déficit en oxygène.

II.4.2 Ennoyage et répartition des espèces végétales

D'une manière générale, il est possible de relier la répartition des différentes communautés végétales au niveau d'aération du sol qui peut être évaluée par la mesure de son Eh (Pezeshki et DeLaune 1998, Pennington et Walters 2006). Plus le Eh du sol est faible plus le taux de survie des arbres diminue (Pezeshki et DeLaune 1998). Le seuil du Eh du sol pour lequel les fonctions physiologiques et la croissance sont affectées dépend de l'espèce considérée.

Dans les plaines alluviales, on observe des associations végétales particulières en fonction des inondations (Blom et Voesenek 1996, Siebel et Blom 1998, Siebel *et al.* 1998, Blom 1999). Ces communautés végétales présentent une zonation plutôt marquée, suivant la position de la nappe d'eau. Cependant, la composition et la répartition de ces communautés dépend d'interactions complexes entre les traits génétiques des espèces et les différentes caractéristiques de l'ennoyage tels que sa fréquence, sa durée annuelle totale, son amplitude (hauteur de nappe) et la saison d'occurrence (Glenz *et al.* 2006, Smith et Brock 2007, Kramer *et al.* 2008). En général, les inondations qui ont lieu pendant la saison de croissance affectent plus la répartition des espèces que les inondations hivernales (Siebel et Blom 1998, van Eck *et al.* 2006, Vreugdenhil *et al.* 2006). Chez le chêne des marais, *Quercus palustris*, Black (1984) n'observe aucun effet de l'ennoyage lorsqu'il est appliqué pendant la saison de dormance.

Chez *Fraxinus excelsior*, *Quercus robur* et *Crataegus monogyna*, la durée annuelle totale des inondations rend compte de leur répartition alors que pour *Salix alba*, *Salix viminalis* et *Populus nigra*, ce serait la durée moyenne par inondation, quant à la répartition de *Pinus nigra*, elle s'expliquerait plutôt par l'amplitude moyenne des inondations (Vreugdenhil *et al.* 2006). Chez *Juncus articulatus* et *Glyceria australis*, la discrimination par les inondations serait liée à la durée totale des inondations plutôt qu'à leur fréquence (Smith et Brock 2007). Dans les régions tropicales et amazoniennes, la répartition des espèces végétales est également très influencée par les phénomènes d'ennoyage (Lopez et Kursar 1999, Budke *et al.* 2008, Parolin *et al.* 2004). La composition des communautés végétales d'une station est un bon indicateur des conditions hydrologiques du milieu et leur étude constitue un outil permettant d'identifier la majeure partie des sites à engorgements temporaires (Pennington et Walters 2006).

La germination est inhibée ou retardée par l'ennoyage puis la survie des jeunes semis ennoyés est souvent limitée (Streng *et al.* 1989, Angelov *et al.* 1996, Guo *et al.* 1998, Parolin 2001b, Kozłowski 2002, Walls *et al.* 2005). Les phénomènes d'ennoyage ont un impact plus négatifs sur les jeunes semis, au cours de leurs premières années de croissance, que sur les semis plus âgés ou les arbres adultes (Kozłowski 1997, Siebel et Blom 1998, Trowbridge *et al.* 2005). La répartition des espèces ligneuses serait directement liée à la tolérance à l'ennoyage des jeunes semis et à leurs capacités d'établissement plutôt qu'à l'aptitude des arbres adultes à tolérer ce type de stress. Ceci s'observe aussi bien chez les espèces amazoniennes (Parolin 2002) que chez les chênes (Guo *et al.* 1998).

Les inondations liées aux régimes fluviaux des plaines alluviales ne concernent pas l'ensemble des phénomènes d'ennoyage rencontrés en forêt. Dans les peuplements forestiers, sur les stations hydromorphes les excès d'eau sont souvent liés aux propriétés du sol et se manifestent généralement par des remontées de nappe. Sur ces stations à hydromorphie temporaire, il est courant d'observer au printemps, lors de l'établissement des jeunes semis, des nappes d'eau dont le niveau est encore proche de la surface du sol (Shahriari 2003, Vincke et Delvaux 2005, Vincent *et al.* 2006). C'est par exemple le cas de plusieurs stations des peuplements de chênes de la forêt de Chaux, dans le Jura. Les phénomènes d'ennoyage exercent donc une pression sélective sur la régénération naturelle des essences forestières qui peut débiter dès la germination des graines. Cela peut avoir des conséquences directes sur le maintien ou la restauration des peuplements forestiers.

II.4.3 Réponses physiologiques à l'ennoyage et conséquences sur la croissance

II.4.3.1 Croissance et accumulation de biomasse

La baisse de productivité des plantes qui se développent sur des sols ennoyés est constatée depuis longtemps et admise comme étant liée au déficit en oxygène dans la rhizosphère.

La diminution de l'allocation de biomasse est une conséquence habituelle pendant les épisodes d'ennoyage (Becker *et al.* 1996, Kozlowski 1997). Dès que la quantité d'oxygène disponible pour les organes submergés est inférieure à la consommation, la croissance est fortement inhibée ou interrompue et l'accumulation de biomasse diminue (Pezeshki et Santos 1998, Drew 1997). Les premiers organes concernés sont bien sûr les racines qui sont les plus exposées aux déficits en oxygène. Leur développement et leur physiologie en sont fortement perturbés. Généralement l'architecture du système racinaire se trouve modifiée par l'inhibition de l'initiation et de l'élongation ; les racines présentent rapidement des nécroses au niveau de l'apex des ramifications secondaires (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Kozlowski 1997, Niki et Gladish 2001, Folzer *et al.* 2006). Dans un premier temps, l'ennoyage provoque une dégradation du système racinaire mais, dans un deuxième temps, les espèces les plus tolérantes sont capables de le restaurer, notamment par le développement de racines superficielles et adventives (§ II.4.3.2, p 24). Chez les arbres, une part importante de la tolérance à l'ennoyage à long terme est attribuée à la mise en place de réponses morphologiques racinaires (Kozlowski 1997).

La réduction de la croissance des racines entraîne une chute de la croissance caulinare. L'inhibition de la croissance de l'appareil aérien se caractérise par une limitation de l'initiation foliaire, une expansion des ébauches foliaires, le dessèchement des tiges et des feuilles et une augmentation de la sénescence (Kozlowski 1982, Ismail et Noor 1996, Parelle *et al.* 2006). La restriction du développement de l'appareil aérien est sans doute une conséquence de la limitation de l'alimentation hydrique et minérale. Cependant, dans certains cas, la réduction de la croissance aérienne est perçue comme une adaptation qui permettrait de conserver les ressources métaboliques nécessaires au rétablissement de la croissance post-stress. Cette stratégie est notamment mise en avant lors de phénomènes d'ennoyage temporaires de courte durée. Généralement, les espèces les plus tolérantes sont capables de maintenir une croissance ou rétablir la croissance aérienne, en particulier après la restauration d'un appareil racinaire fonctionnel. Dans certains cas, l'ennoyage stimule la croissance de la tige, comme chez certaines espèces de riz (Jackson 1990, Ito *et al.* 1999) et de rumex (Voesenek *et al.* 1997). Cette réponse s'observe lorsque la plante est complètement submergée et correspondrait à une stratégie échappatoire. Cela permettrait aux parties aériennes de se développer dans un environnement plus favorable (au dessus du niveau de la nappe) et d'alimenter en oxygène les parties racinaires.

Les perturbations qui affectent le système racinaire des plantes exposées à des conditions d'ennoyage ont des répercussions sur les parties aériennes. Ainsi, l'ennoyage du sol est un stress qui affecte la plante entière.

II.4.3.2 Réponses morphologiques et anatomiques du système racinaire

Aérenchymes et lacunes

La formation d'espaces gazeux dans le cortex racinaire qui améliore l'oxygénation des cellules, afin d'en limiter le stress hypoxique, est considérée comme une adaptation majeure dans la tolérance à l'ennoyage (Drew 1997, Vartapetian et Jackson 1997, Evans 2004). La formation d'espaces gazeux dans le cortex racinaire peut s'organiser en véritables tissus aérifères, sous forme de canaux appelés aérenchymes. Lorsqu'en réponse à l'ennoyage on observe dans les racines la formation d'espaces dont le rôle aérifère n'est pas démontré, il est préférable de les désigner par le terme lacune plutôt qu'aérenchyme. De plus, la formation de lacunes peut éventuellement être une conséquence de l'ennoyage sans réel fonction adaptative.

Les aérenchymes et les lacunes peuvent se développer suite à des processus nécrotiques liés à l'accumulation de produits phytotoxiques (Drew 1997). Elles peuvent également être formées par lysogénie, c'est-à-dire par mort cellulaire contrôlée et lyse des cellules, de manière similaire aux processus de mort cellulaire programmée (Drew *et al.* 2000, Gunawardena *et al.* 2001, Evans 2004). L'éthylène est fortement impliqué dans ces processus. Une mort cellulaire n'intervient pas forcément dans le développement des lacunes. Elles peuvent se former par schizogénie, c'est-à-dire par séparation des lamelles moyennes des cellules pendant le développement des tissus (Jackson et Armstrong 1999, Evans 2004). Cette séparation des cellules indépendante des stimuli externes serait hautement régulée, mais les mécanismes de schizogénie sont peu étudiés et restent à déterminer (Evans 2004).

La formation des aérenchymes et des lacunes a pour conséquence d'augmenter la porosité racinaire, ce qui permettrait de limiter l'accumulation des composés toxiques dérivés du métabolisme fermentaire des racines ennoyées (Visser *et al.* 1997). L'augmentation de la porosité racinaire facilite également la diffusion des gaz à travers les tissus (Evans 2004). Les aérenchymes peuvent constituer un continuum de l'appareil aérien au système racinaire, permettant alors la diffusion des gaz, notamment l'oxygène, des parties émergées vers les organes ennoyés (Drew 1997, Jackson et Armstrong 1999, Vasellati *et al.* 2001, Evans 2004). En complément des aérenchymes, la diffusion de l'oxygène peut être améliorée par la formation d'une "barrière", au niveau de l'épiderme racinaire, qui limite les pertes d'oxygène par diffusion radiale vers l'extérieur (Visser *et al.* 2000, McDonald *et al.* 2001, Colmer 2003, Pedersen *et al.* 2006).

La formation d'aérenchymes s'observe chez de nombreuses espèces herbacées (Vartapetian et Jackson 1997, Visser *et al.* 2000, Gibberd *et al.* 2001, Chen *et al.* 2002, McDonald *et al.* 2002). Chez les arbres, de véritables aérenchymes sont plus rarement observés. De telles structures ont été décrites chez quelques espèces des mangroves (Haase *et al.* 2003) et des saules (Jackson et Attwood 1996, Li *et al.* 2006). Chez l'aulne, une espèce relativement tolérante à l'ennoyage, des lacunes se forment dans ses racines adventives sans constituer de véritables aérenchymes (Armstrong et Armstrong 2005). La tolérance à

l'ennoyage des arbres semble associée à l'augmentation de la porosité racinaire (Pezeshki *et al.* 1996b, Anderson et Pezeshki 2001). Chez les chênes, la formation de véritables aérénchymes n'a encore jamais été mise en évidence. Néanmoins, après quelques jours d'hypoxie, le chêne sessile présente des lacunes dans le cortex de sa racine pivot (Folzer *et al.* 2006). Les cellules y sont moins sphériques et plus larges et la porosité racinaire augmente. Chez le chêne pédonculé sous ennoyage, des lacunes ont été détectées dans le cortex des racines superficielles (Parelle 2006).

Dans de nombreux cas, les fonctions de ces espaces gazeux ou lacunaires sont essentiellement hypothétiques, notamment chez les espèces ligneuses.

Lenticelles hypertrophiées

L'hypertrophie des lenticelles est une réponse anatomique à l'ennoyage couramment observée chez les espèces ligneuses (Yamamoto *et al.* 1995, Kozlowski 1997, Parolin 2001a, Dittert *et al.* 2006). Cette réponse à l'ennoyage s'observe chez le chêne sessile et, de manière plus marquée, chez le chêne pédonculé (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Parelle *et al.* 2007a). Chez les chênes, les lenticelles semblent induites par les conditions hypoxiques locales, sur la partie immergée de la tige et du pivot (Parelle 2006, Parelle *et al.* 2007a). L'hypertrophie des lenticelles s'accompagne parfois du développement de lacunes sous jacentes, au niveau du cortex racinaire (Mielke *et al.* 2003). Ces lenticelles hypertrophiées pourraient alors avoir un rôle dans l'oxygénation de la tige et des racines (Mancuso et Marras 2003, Dittert *et al.* 2006). Cependant, aucune continuité entre les lenticelles et les lacunes racinaires n'a pu être mise en évidence chez l'aulne (Armstrong et Armstrong 2005) ni chez les chênes (Parelle 2006), limitant cette hypothèse. Les lenticelles peuvent aussi jouer un rôle dans l'absorption d'eau ou le rejet de solutés comme les produits fermentaires. En effet, chez certains arbres comme le bouleau, la perméabilité à l'eau à travers les lenticelles hypertrophiées est beaucoup plus élevée que dans les lenticelles intactes (Groh *et al.* 2002). Le rôle adaptatif des lenticelles hypertrophiées sur le fonctionnement des arbres ennoyés reste donc largement méconnu.

Racines superficielles et adventives

La capacité de former de nouvelles racines en remplacement des racines nécrosées, ou dont le fonctionnement est altéré par l'hypoxie, est une caractéristique importante de la tolérance à l'ennoyage (Blom et Voesenek 1996, Vartapetian et Jackson 1997, Pezeshki 2001).

Dans la littérature, les termes racines "d'adaptation", "superficielles" et "adventives" sont souvent utilisés sans grande distinction, dès lors que ces racines sont néoformées en réponse à l'hypoxie. Cependant, bien que les racines adventives puissent être considérées comme des racines superficielles, toutes les racines superficielles ne correspondent pas forcément à des racines adventives. Les racines adventives sont par définition plagiotropes et se développent directement sur la tige, ou au niveau du collet, au dessus de la surface du sol. Quant aux racines superficielles, elles se développent sur la partie basale du système racinaire, dans les

horizons proches de la surface du sol. En ce qui concerne les racines d'adaptation, il s'agit de l'ensemble des racines qui présentent des caractères adaptatifs en réponse à l'ennoyage. Les racines adventives sont vraisemblablement des racines d'adaptation, ce qui n'est pas forcément le cas des racines superficielles. De plus, l'apparition de racines d'adaptation plus en profondeur n'est pas exclue, bien que peu probable. Les racines d'adaptation montrent une plus grande porosité, avec notamment la présence d'aérenchymes ou de lacunes qui facilitent l'aération des tissus (Visser *et al.* 2000, McDonald *et al.* 2001, Chen *et al.* 2002, McDonald *et al.* 2002, Li *et al.* 2006).

Le développement de racines à l'interface eau-air ou dans les horizons superficiels du sol, susceptibles d'être mieux oxygénés et de retourner plus rapidement à des conditions de normoxie, permettrait de diminuer la contrainte du stress hypoxique (Blom *et al.* 1994, Kozlowski 1997, Pezeshki 2001). La formation de ces racines spécialisées prend place lorsque le système racinaire original n'est plus capable d'alimenter l'appareil aérien en quantités suffisantes d'eau et d'éléments minéraux. Préalablement au développement des racines adventives, les cellules épidermiques meurent, ce qui faciliterait l'émergence de ces racines secondaires (Mergemann et Sauter 2000). En réponse à l'ennoyage, l'éthylène est une hormone particulièrement impliquée dans le développement des racines adventives (voir § II.4.6, p34).

La formation des racines adventives s'observent généralement chez les espèces les plus tolérantes à l'ennoyage. (Blom *et al.* 1994, Armstrong *et al.* 1999, McDonald *et al.* 2001, Chen *et al.* 2002). Chez les arbres, de véritables racines adventives s'observent notamment chez les espèces amazoniennes (Parolin 2001a). Lorsque le niveau de la nappe d'eau est élevé, au dessus de la surface du sol, de telles racines sont également observées chez les espèces des régions tempérées, généralement réputées tolérantes à l'ennoyage comme chez le frêne (Yamamoto *et al.* 1995), le saule (Jackson et Attwood 1996), l'aulne (Iwanaga et Yamamoto 2008), le cyprès et certains chênes (Anderson et Pezeshki 2001). Le chêne pédonculé montre notamment une plus grande capacité que le chêne sessile à former des racines superficielles et également, suivant les conditions d'ennoyage, des racines adventives (Dreyer *et al.* 1991, Schmull et Thomas 2000, Shahriari 2003, Parelle *et al.* 2006).

II.4.3.3 Réponses physiologiques de la partie aérienne

Relations hydriques

En raison du déficit en oxygène qu'il entraîne dans la rhizosphère, l'ennoyage est responsable de dysfonctionnements au niveau racinaire. Les racines deviennent moins fonctionnelles, certaines dégénèrent et le développement de nouvelles racines est perturbé. La perméabilité membranaire des cellules racinaires diminue en seulement quelques heures d'ennoyage et engendre une baisse de la conductivité hydraulique, ce qui provoque une déficience de l'alimentation hydrique et minérale (Else *et al.* 2001). Selon des travaux récents, la diminution de la conductivité hydraulique des racines serait liée à la fermeture

d'aquaporines (*aquaporin gating*) dont l'ouverture est régulée par le pH cytosolique qui diminue sous hypoxie (Tournaire-Roux *et al.* 2003). Sous ennoyage, la dégradation du système racinaire et la réduction de la conductance hydraulique est à l'origine d'un déficit hydrique interne, observé chez de nombreuses espèces (Pezeshki *et al.* 1996a, b, Ruiz-Sánchez *et al.* 1996, McLeod *et al.* 1999, Schnull et Thomas 2000, Pezeshki 2001, Jackson *et al.* 2003, Nicolás *et al.* 2005), qui est comparable à ce qui s'observe en cas de stress hydrique (García-Sánchez *et al.* 2007). Le potentiel osmotique de la sève brute et la pression de turgescence en sont modifiés.

Les relations hydriques des plantes sont ainsi altérées dès les premières heures d'ennoyage du système racinaire et l'appareil foliaire en est affecté. Chez les espèces sensibles, les réponses à l'ennoyage les plus visibles sont souvent un dépérissement des rameaux, lié à la perte de turgescence, avec le jaunissement et le flétrissement des feuilles, qui peut aboutir à une sénescence foliaire et à la dessiccation complète des tiges (Kozłowski 1982, Kozłowski 1997). Chez les arbres tolérants à l'ennoyage, le rétablissement de l'alimentation hydraulique peut être associé à la mise en place de nouvelles racines (Dreyer *et al.* 1991, Kozłowski 1997, Schnull et Thomas 2000).

Régulation stomatique

L'une des réponses physiologiques à l'ennoyage les plus précoces est la fermeture des stomates et la réduction de la conductance stomatique, observée chez de nombreuses espèces (Sun *et al.* 1995, Ismail et Noor 1996, Pezeshki *et al.* 1996b, Schnull et Thomas 2000, Else *et al.* 2001) et chez les chênes (Dreyer 1994, Folzer *et al.* 2006). Cette fermeture des stomates accompagne le déficit hydrique interne provoqué par l'ennoyage. Cependant, à ce jour, les caractéristiques de la régulation stomatique sous ennoyage ne sont pas clairement élucidées. Le premier mécanisme proposé impliquerait une réduction du flux de solutés vers les parties aériennes (Jackson 1990, Else *et al.* 2001, Jackson 2002), consécutifs à la réduction des flux hydriques au travers de la plante. L'acide abscissique (ABA) est l'hormone généralement impliquée dans la fermeture des stomates mais, après quelques heures d'ennoyage, la fermeture des stomates s'observe sans modification des teneurs en ABA et, parfois, avant même qu'il y ait un déficit hydrique foliaire (Else *et al.* 1996, Jackson *et al.* 1996, Else *et al.* 2001). Des molécules signal "anti-transpirantes", telles que l'éthylène ou l'oxyde nitrique, transportées via la sève xylémienne, serraient probablement impliquées dans la fermeture stomatique des plants ennoyés (Else *et al.* 1996, Jackson *et al.* 2003, Dat *et al.* 2004). De plus, le pH de la sève xylémique augmente rapidement sous ennoyage et pourrait également constituer un signal à l'origine de la fermeture stomatique (Jackson *et al.* 1996, Ratcliffe 1997, Wilkinson 1999, Dat *et al.* 2004).

Les racines n'étant plus capables d'assurer une alimentation hydrique correcte, la fermeture des stomates permet de limiter les pertes d'eau par transpiration. Lorsque l'ennoyage est prolongé, chez les espèces sensibles la réduction de la conductance stomatique s'accompagne néanmoins d'une augmentation du stress hydrique et d'une déshydratation

foliaire (Pezeshki 2001). Chez les arbres exposés à des conditions d'ennoyage, la capacité à maintenir les stomates ouverts ou à rétablir la conductance stomatique après plusieurs jours de stress est une caractéristique des espèces tolérantes (Cao et Conner 1999, Islam et Macdonald 2004). Cette caractéristique est directement liée à la capacité de ces espèces à maintenir ou rétablir un état hydrique correct par un apport en eau suffisant pour les parties aériennes.

Photosynthèse

Chez de très nombreuses espèces exposées à des conditions d'ennoyage, une diminution rapide de la photosynthèse fait suite à la réduction de la conductance stomatique (Pezeshki *et al.* 1996a, Gravatt et Kirby 1998, Ashraf et Rehman 1999, Fernandez *et al.* 1999, Pezeshki 2001, Mielke *et al.* 2005 ...). La fermeture des stomates réduit les échanges gazeux, notamment la conductance foliaire pour le CO₂, ce qui se répercute sur l'assimilation nette du CO₂ et l'activité photosynthétique. Cependant, d'autres facteurs peuvent être impliqués dans la diminution de la photosynthèse. La diminution des teneurs en chlorophylles, la réduction de la surface foliaire et la sénescence foliaire sont des réponses à l'ennoyage courantes qui contribuent à réduire la photosynthèse (Dreyer 1994, Pezeshki 1994, Wagner et Dreyer 1997, Pezeshki 2001, Fernandez 2006, García-Sánchez *et al.* 2007). La réduction irréversible de l'efficacité photochimique du photosystème II et la réduction de l'activité de la Rubisco par l'ennoyage ont également pu être observées (Liao et Lin 1994, Dreyer 1994, Wagner et Dreyer 1997, Schlüter et Crawford 2001, Ahmed *et al.* 2002, Yordanova *et al.* 2003).

Tableau SB-1. Espèces de chênes qui présentent une diminution de l'assimilation du CO₂ proportionnelle à la sensibilité à l'ennoyage.

<i>Q. lyrata</i>	>	<i>Q. falcata</i>	Pezeshki <i>et al.</i> (1996b)
<i>Q. nuttallii</i>	>	<i>Q. falcata</i>	Pezeshki et Anderson (1997)
<i>Q. nuttallii</i>	>	<i>Q. michauxii</i>	Anderson et Pezeshki (1999)
<i>Q. nuttallii</i> et <i>Q. lyrata</i>	>	<i>Q. nigra</i> > <i>Q. michauxii</i>	McLeod <i>et al.</i> (1999)
<i>Q. falcata</i>	>	<i>Q. michauxii</i>	Angelov <i>et al.</i> (1996)
<i>Q. nigra</i>	>	<i>Q. alba</i>	Gravatt et Kirby (1998)
<i>Q. robur</i>	>	<i>Q. rubra</i>	Dreyer (1994)
<i>Q. robur</i>	>	<i>Q. palustris</i> > <i>Q. rubra</i>	Colin-Belgrand <i>et al.</i> (1991)

A l'instar du maintien de l'état hydrique des plants et de la conductance stomatique, la maintenance ou le rétablissement de la capacité photosynthétique caractérise les espèces tolérantes à l'ennoyage (Liao et Lin 1994, Fernandez *et al.* 1999, Pezeshki 2001). Chez de nombreuses espèces d'arbres, la diminution de la photosynthèse apparaît corrélée à la sensibilité à l'ennoyage, chez des espèces tropicales (Fernandez *et al.* 1999, Lopez et Kursar 1999), boréales (Islam et Macdonald 2004) et chez de nombreuses espèces de chêne (Tableau SB-1). Cependant, chez les semis de chêne pédonculé et de chêne sessile, la baisse de

conductance stomatique et d'assimilation du CO₂ par l'ennoyage sont comparables (Dreyer *et al.* 1991, Wagner et Dreyer 1997, Schmull et Thomas 2000).

L'assimilation globale du carbone est donc affectée par l'ennoyage, ce qui diminue la fourniture en hydrates de carbones depuis les sources foliaires vers les organes puits en croissance. La disponibilité en glucides, nécessaire au métabolisme énergétique, notamment pour la maintenance et la croissance des racines ennoyées, peut devenir un point critique dans ces conditions de stress.

II.4.4 Réponses métaboliques et cellulaires

Catabolisme énergétique et production d'ATP

En conditions d'ennoyage, le faible approvisionnement en oxygène au niveau cellulaire a pour conséquence immédiate une forte limitation de la production d'ATP (Ricard *et al.* 1994, Blom et Voesenek 1996). La dégradation oxydative complète du glucose se déroule en quatre étapes dont la première est la glycolyse. Le cycle de Krebs, la chaîne de transport d'électrons et la phosphorylation oxydative sont les trois autres étapes qui prennent place si l'oxygène est présent. La diminution interne des teneurs en oxygène conduit à une diminution du flux d'électrons dans les chaînes respiratoires ce qui restreint les activités métaboliques aérobies et stimule les voies métaboliques n'utilisant pas l'oxygène comme accepteur final (Drew *et al.* 1994, Drew 1997, Summers *et al.* 2000). Ainsi, lorsque les conditions se rapprochent de l'anaérobiose, la production d'ATP se fait très majoritairement à travers la glycolyse et les processus fermentaires (Drew 1997, Gibbs et Greenway 2003, Figure SB-4). Cette production d'ATP a un rendement, par mole de glucose catalysée, 16 à 18 fois inférieur à celui du cycle complet de la phosphorylation oxydative (Summers *et al.* 2000). Le ralentissement du métabolisme énergétique des cellules racinaires sous hypoxie engendre alors une baisse globale de l'énergie disponible pour la plante (Bouny et Saglio 1996). Pour compenser ce faible rendement de production d'ATP par mole de glucose, dans un premier temps, le flux glycolytique est généralement augmenté (Vartapetian et Jackson 1997, Summers *et al.* 2000, Gibbs et Greenway 2003).

Maintien de la charge énergétique

La régénération du NAD⁺, réduit pendant la glycolyse, est indispensable pour maintenir la production énergétique. L'oxydation du NAD(P)H en NAD(P)⁺ est efficace en présence d'oxygène et se trouve alors restreinte sous hypoxie ou anoxie. Chez les plantes, en absence d'oxygène la glycolyse est suivie principalement par trois voies métaboliques fermentaires : la fermentation éthanolique, la fermentation lactique et une voie impliquant l'alanine aminotransférase (Dennis *et al.* 2000). Ces réactions qui ne produisent pas d'ATP permettent la régénération des coenzymes, l'oxydation du NAD(P)H en NAD(P)⁺, indispensables à la poursuite de la glycolyse (Figure SB-4, Ricard *et al.* 1994, Vartapetian et Jackson 1997).

D'autres voies métaboliques sont impliquées dans la régénération du pouvoir réducteur. La nitrate réductase participerait à la réoxydation du NADH en cas de déficit en oxygène (Figure SB-6, Reggiani *et al.* 1993, Müller *et al.* 1994, Drew 1997, Fan *et al.* 1997). Des hémoglobines non symbiotiques semblent associées aux enzymes de la nitrate réductase dans un cycle utilisant le monoxyde d'azote (Dordas *et al.* 2003a, Perazzolli *et al.* 2004, Igamberdiev et Hill 2004, Igamberdiev *et al.* 2005). La synthèse des acides aminés comme le glutamate, le γ -aminobutyrate (GABA) et l'alanine, associée à l'activité des enzymes glutamine synthétase – glutamate synthase, pourrait également permettre une régénération non négligeable du NAD^+ (Figure SB-7 et Figure SB-8 p 41, Fan *et al.* 1997, Gibbs et Greenway 2003).

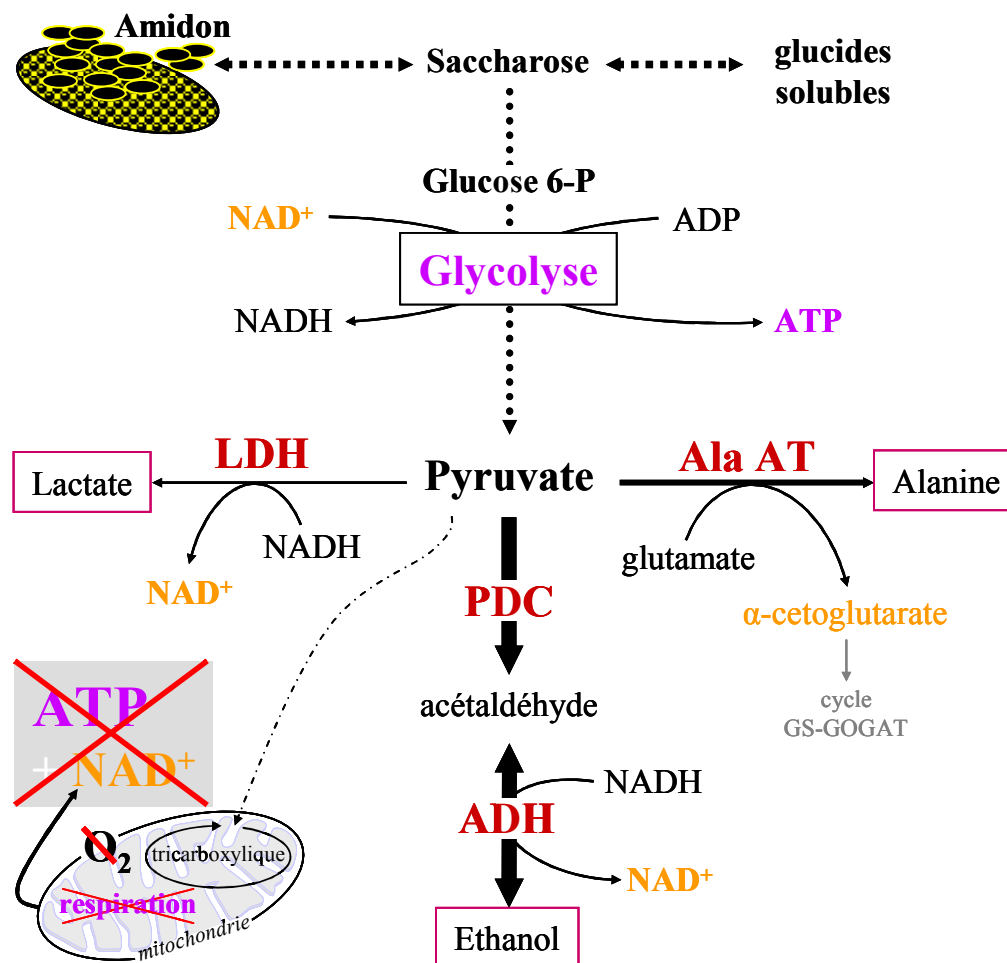


Figure SB-4. Représentation des trois principales voies fermentaires qui font suite à la glycolyse lors d'un déficit en oxygène. Les principales enzymes impliquées sont : la pyruvate décarboxylase (PDC) et l'alcool déshydrogénase (ADH) pour la fermentation éthanolique, la lactate déshydrogénase (LDH) pour la fermentation lactique et la voie de l'alanine aminotransférase (Ala AT). Sans oxygène, la production énergétique par les mitochondries est inhibée, la glycolyse devient la seule source d'ATP et les voies fermentaires permettent de régénérer le NAD^+ nécessaire à la glycolyse.

L'importance de l'activation des différentes voies fermentaires sous anoxie varie selon les espèces étudiées. Cependant, la glycolyse est essentiellement dépendante de la fermentation éthanolique, les autres voies restant quantitativement mineures (Ricard *et al.* 1994, Gibbs et

Greenway 2003). Chez certaines espèces de riz exposées à des conditions d'ennoyage, les flux de carbone issu du catabolisme du pyruvate vers l'éthanol, l'alanine et le lactate sont respectivement de 92 %, 7 % et 1 % (Kato-Noguchi 2006). En conditions d'ennoyage, l'intensité de la fermentation alcoolique est parfois directement corrélée à la production d'ATP et également au niveau de tolérance des espèces (Das et Uchimiya 2002, Kato-Noguchi 2000, Kato-Noguchi et Morokuma 2007). Chez le chêne sessile et plus particulièrement chez le chêne pédonculé la fermentation éthanolique est stimulée par l'ennoyage (Schmull et Thomas 2000, Parelle *et al.* 2006).

Cependant, même les espèces sensibles à l'ennoyage montrent après quelques heures d'anoxie une activation des voies fermentaires (Gibbs et Greenway 2003, Fukao et Bailey-Serres 2004). Ainsi, dans certains cas, une plus forte activation des voies fermentaires éthanolique et lactique n'est pas associée à une meilleure tolérance à l'ennoyage ; comme par exemple chez différentes variétés de blé (Akhtar *et al.* 1998, Mustroph et Albrecht 2007). De plus, même si le métabolisme fermentaire permet de pallier en partie au déficit en ATP pendant le stress anoxique, cette adaptation n'est pas suffisante pour supporter de longues périodes d'anoxie (Laan *et al.* 1991). Plusieurs travaux soulignent l'importance d'une réduction de la consommation d'ATP pour survivre à une longue période sans oxygène (Greenway et Gibbs 2003, Geigenberg 2003). Cette diminution de l'utilisation d'ATP peut se réaliser à travers la stimulation de voies métaboliques moins coûteuses en énergie, comme la dégradation du saccharose en hexoses par la saccharose synthase plutôt que par les invertases. Dans les tissus tolérants à l'anoxie, il pourrait y avoir une réduction du coût de maintenance (Greenway et Gibbs 2003). De plus, la tolérance à l'ennoyage à long terme est souvent associée à une régulation du métabolisme, avec une limitation des voies fermentaires (Figure SB-5 p 36, Gibbs et Greenway 2003).

Variation du pH cytosolique

La baisse du pH cytosolique constitue l'un des premiers événements cellulaires engendré par le déficit en oxygène chez les plantes soumises à des conditions d'ennoyage. La diminution de la production d'ATP provoque rapidement une diminution du pH intracellulaire, d'une part à cause de l'hydrolyse des nucléotides triphosphate (notamment l'ATP) qui génère des protons et, d'autre part, à cause de la diminution de l'activité des pompes à protons, H⁺-ATPases membranaires, régulant la concentration en protons cytosolique (Saint-Ges *et al.* 1991, Ricard *et al.* 1994, Gout *et al.* 2001, Felle 2005, Kulichikhin *et al.* 2007). D'autres causes sont imputables à l'acidification du cytoplasme en conditions limitante d'oxygène, notamment l'accumulation de produits issus des voies métaboliques fermentaires (Greenway et Gibbs 2003, Vartapetian 2006).

L'acidification du cytoplasme est certainement l'une des plus importantes altérations cellulaires sous anoxie. C'est une réponse au déficit en oxygène qui s'observe chez la plupart des organismes vivants, quel que soit leur niveau de tolérance à ce stress. La chute du pH cytosolique est considérée comme un facteur important pour la survie des plantes sous

hypoxie ou anoxie (Drew 1997, Wilkinson 1999, Greenway et Gibbs 2003, Felle 2005). Cette réponse serait le premier signal perçu par les plantes exposées à des conditions d'ennoyage. L'acidification du cytosol conduit à une cascade d'événement entraînant des modifications de l'expression génique (Gibbs et Greenway 2003). Cette acidification est notamment favorable à l'activation de la pyruvate décarboxylase de la voie fermentaire éthanolique. De plus, cette diminution du pH pourrait être un signe précurseur de la mort cellulaire et de la formation des lacunes ou des aérénchymes dans le cortex racinaire (§ II.4.3.2, p 23). Elle pourrait également être impliquée dans la régulation de la fermeture des stomates (Wilkinson 1999 ; § II.4.3.3, p 26).

Cependant, une trop forte acidification du cytosol est responsable de la mort cellulaire. Il est donc nécessaire pour les plantes de limiter la chute du pH cytosolique (Greenway et Gibbs 2003, Felle 2005, Vartapetian 2006). En cas de déficit en oxygène, les espèces tolérantes maintiennent leur pH à un certain niveau - acidification favorable au métabolisme anoxique - alors que les espèces sensibles montrent une acidification cytosolique plus élevée qui entraîne des dommages cellulaires importants. Par exemple chez le riz, une espèce tolérante, après quelques heures de stress on observe un réajustement partiel du pH (Kulichikhin *et al.* 2007). L'activité nitrate réductase (Figure SB-6 p 40) et certaines voies de synthèse des acides aminés à partir du glutamate, comme celles du GABA et de la putrescine à partir de l'arginine (Figure SB-8 p 41), consomment des électrons et des protons ; sous ennoyage ces voies métaboliques participeraient activement à la régulation du pH (Crawford *et al.* 1994, Müller *et al.* 1994, Drew 1997, Fan *et al.* 1997, Reggiani et Bertani 2003, Kato-Noguchi et Ohashi 2006).

Stress oxydatif et système de détoxification

La présence d'oxygène dans les organismes aérobies conduit toujours à la formation de dérivés réactifs toxiques de l'oxygène (Foyer et Noctor 2005). Les formes réactives de l'oxygène (*reactive oxygen species*, ROS) telles que OH^\cdot , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , l'ion superoxide O_2^\cdot , le radical hydroxyle OH^\cdot se forment par la réduction du dioxygène, qui intervient au niveau des multiples chaînes de transporteurs d'électrons des divers compartiments cellulaires. Le chloroplaste est le site privilégié de cette formation mais, mitochondrie, peroxysomes et plasmalemma y participent également. Les ROS nuisent à l'intégrité des constituants cellulaires, ils interagissent en particulier avec les lipides membranaires en provoquant une lipoperoxydation et également avec les protéines qui sont alors dégradées. Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits résultant de la dégradation ultime des lipides membranaires. Pour se prémunir d'une formation exagérée en ROS, les enzymes comme la super oxyde dismutase (SOD), l'ascorbate peroxydase (APX), la glutathion réductase (GR), la catalase (CAT) interviennent en les détoxifiant, *i.e.* en catalysant leur transformation en des formes moins réactives. Ce sont les enzymes du système de détoxification. De nombreux stress conduisent à une forte production de ROS et engendrent un stress oxydatif (Foyer et Noctor 2005). En conditions d'ennoyage, plusieurs études montre

une activation du système de détoxification, notamment dans les feuilles (Biemelt *et al.* 2000, Ahmed *et al.* 2002, Blokhina *et al.* 2003, Chen et Qualls 2003, Yordanova *et al.* 2004, Lin *et al.* 2004, Arbona *et al.* 2008). Parfois, l'ennoyage entraîne au contraire une réduction des activités de détoxification, avec une augmentation des teneurs en MDA, qui témoignent de dommages oxydatifs (Zhou et Lin 1995, Ahmed *et al.* 2002). Cette situation correspondrait alors à la sénescence des plants. Face aux phénomènes d'ennoyage, la stimulation de l'activité du système de détoxification est généralement plus élevée chez les espèces tolérantes que chez les espèces sensibles. Chez des agrumes ennoyées, la stimulation des enzymes SOD, APX, GR et CAT limite la production de MDA, proportionnellement au niveau de tolérance des espèces (Arbona *et al.* 2008). Dans les feuilles de semis ennoyés du chêne pédonculé, une accumulation de MDA a déjà pu être observée (Gérard 2003).

En conditions d'ennoyage, plusieurs facteurs peuvent contribuer à l'apparition d'un stress oxydatif. Chez l'orge, en conditions d'ennoyage, la production de ROS et l'activation du système de détoxification dans les feuilles proviendraient de dysfonctionnements au niveau de la photosynthèse et de la photorespiration (Yordanova *et al.* 2003, Yordanova *et al.* 2004). En conditions d'ennoyage, la réduction du manganèse et du fer rend ces éléments métallique solubles et leur absorption est facilitée (§ II.3, p 18). Un excès de Fe^{2+} ou de Mn^{4+} libre dans le sol peut également avoir un effet toxique pour la plante en réagissant avec l'oxygène pour former des ROS (Marschner 1995, Thomas et Sprenger 2008). De plus, l'ennoyage contribue à la formation de dérivés toxiques issus du métabolisme fermentaire, en particulier l'acétaldéhyde (intermédiaire de la fermentation éthanolique). Les dégradations cellulaires engendrées par ces composés conduisent également à la formation d' H_2O_2 comme produit final (Blokhina *et al.* 2003). Après ennoyage, le retour à des conditions de normoxie peut également engendrer un stress oxydatif (Ito *et al.* 1999). Lorsque le niveau de la nappe d'eau s'abaisse, les cellules dont le métabolisme est acclimaté à l'hypoxie sont soudainement exposées à des teneurs élevées en oxygène. Un brusque surplus d'oxygène peut alors générer des ROS.

II.4.5 Réponses moléculaires

L'ennoyage perturbe la chaîne de synthèse des protéines. De nombreux gènes sont réprimés lorsque les teneurs en oxygène chutent, mais la transcription de certains gènes est stimulée (Dennis *et al.* 2000, Klok *et al.* 2002). Le passage de l'aérobie vers l'anaérobie ce fait notamment par l'induction des gènes responsables de la glycolyse et de la fermentation (Peng *et al.* 2001), qui s'observe aussi bien chez les espèces sensibles que chez les espèces tolérantes à l'ennoyage (Fukao et Bailey-Serres 2004). La diversité protéique sous anaérobie se limite alors à environ une vingtaine de protéines (*anaerobic proteins*, ANPs), régulées au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel (Sachs *et al.* 1996, Drew 1997, Chang *et al.* 2000). La majorité des gènes induits par de faibles teneurs en oxygène codent pour des ANPs, essentiellement des enzymes solubles, impliquées dans les voies métaboliques fermentaires (Dennis *et al.* 2000) décrites précédemment en réponse à l'ennoyage (§ II.4.4, p 28). Les

enzymes qui permettent la mobilisation de l'amidon (α -amylases) et du saccharose (saccharose synthase), les enzymes glycolytiques (glucose-6-phosphate isomérase, hexokinases, fructose 1,6-biphosphate, enolases...), les enzymes de la fermentation éthanolique (pyruvate décarboxylase et alcool déshydrogénase), de la fermentation lactique (lactate déshydrogénase) et du métabolisme azoté (l'alanine aminotransférase, la nitrate et la nitrite réductase, la glutamate déshydrogénase)... appartiennent aux ANPs (Ricard *et al.* 1994, Sachs *et al.* 1996, Drew 1997, Chang *et al.* 2000, Dennis *et al.* 2000, Subbaiah et Sachs 2003). L'augmentation des transcrits de la pyruvate décarboxylase a notamment été détectée dans les racines du chêne pédonculé ennoyé (Parelle *et al.* 2006). Les gènes dont l'expression est induite par un déficit en oxygène concernent également des facteurs de transcription, des composants de la signalisation, les processus de détoxification, la relaxation des parois, la synthèse d'hémoglobines non symbiotiques et la synthèse de l'éthylène (Klok *et al.* 2002, Dordas *et al.* 2003a, b, Paul *et al.* 2004, Liu *et al.* 2005, Dat *et al.* 2006). Chez les chênes, une calmoduline est vraisemblablement impliquée dans la transduction du signal lors de la réponse à l'ennoyage (Folzer *et al.* 2005, Folzer *et al.* 2006). De plus, chez les chênes, Parent *et al.* (2008) ont récemment mis en évidence que l'expression du gène *QpHb1* d'une hémoglobine non symbiotique est stimulée après quelques heures d'ennoyage, en particulier chez le chêne pédonculé.

Plusieurs gènes induits par de faibles teneurs en oxygène montrent dans la région régulatrice, à proximité de leur promoteur, un motif séquentiel similaire (Dennis *et al.* 2000, Klok *et al.* 2002). L'expression de plusieurs groupes de gènes sous anoxie serait donc régulée par des facteurs de transcription communs. Principalement, quatre groupes de gènes sont induits de manière précoce lors d'un ennoyage : (i) divers gènes du métabolisme associés aux ANPs, (ii) des gènes intervenant dans la transduction des signaux (kinases et leurs facteurs de transcription), (iii) des gènes liés aux mécanismes de défenses et, (iv) des gènes codant pour des protéines impliquées dans la structure de l'ADN (Dennis *et al.* 2000, Agarwal et Grover 2005, Agarwal et Grover 2006).

II.4.6 Perception du stress, signalisation et induction des réponses à l'ennoyage

Chez les plantes exposées à des conditions d'ennoyage, plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans la perception du stress et entraîner la transduction du signal pour induire les réponses au stress. Les cellules végétales semblent capables de percevoir le niveau d'oxygène mais peu de données existent sur la perception de l'hypoxie ou l'anoxie. L'ennoyage des plantes est caractérisé par des changements de concentration de plusieurs régulateurs de croissance et diverses molécules de signalisation, pouvant être à l'origine de cascades de signaux (Dat *et al.* 2004). Les principaux éléments des voies de transduction sont : le calcium intracellulaire, les protéines kinases, l'éthylène, l'acide abscissique, l'auxine, les cytokinines... (Voeselek *et al.* 1997, Ellis *et al.* 1999, Evans *et al.* 2001, Dat *et al.* 2004, Folzer *et al.* 2006).

L'éthylène est une hormone impliquée dans l'ajustement de la croissance des plantes en réponse aux changements environnementaux. Elle n'est pas spécifique à l'hypoxie mais elle est perçue comme une hormone clé dans la régulation des réponses à l'ennoyage (Grichko et Glick 2001, Jackson 2002, Dat *et al.* 2004, Pierik *et al.* 2007). En réponse à l'hypoxie, la production d'éthylène augmente rapidement, en moins de quatre heures chez *Arabidopsis* (Peng *et al.* 2001). Le précurseur de l'éthylène est la S-adénosyl-L-méthionine (SAM). Ensuite, l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxilique (ACC) est synthétisé à partir de la SAM, via l'ACC synthase qui est induite par l'hypoxie (Grichko et Glick 2001). L'ACC synthétisé dans les racines ennoyées est transporté vers les parties aériennes pour y être oxydé en éthylène. L'éthylène est plutôt connu pour ses effets inhibiteurs de croissance. Toutefois, cette hormone peut stimuler la croissance, notamment en conditions d'ennoyage (Pierik *et al.* 2006). Selon les espèces, les réponses à l'éthylène sont très variables et le lien entre dose et réponse varie également. L'éthylène peut stimuler la croissance racinaire à faible concentration mais pas à forte concentration ou alors, chez certaines espèces, avoir uniquement un effet inhibiteur de croissance (Visser *et al.* 1997, Voesenek *et al.* 1997, Visser et Pierik 2007). Parfois, les faibles teneurs en oxygène augmentent la sensibilité à cette hormone sans en modifier le taux de production (Voesenek *et al.* 1997). L'éthylène peut induire une série de réponses qui permettent aux plantes ennoyées de limiter le manque d'oxygène interne en améliorant l'aération des racines (Pierik *et al.* 2007). L'éthylène est notamment impliqué dans la mise en place des racines adventives, en interaction avec l'auxine (Liu et Reid 1992, Grichko et Glick 2001, Visser et Voesenek 2005, Steffens *et al.* 2006) et dans le développement des aérénchymes (Gunawardena *et al.* 2001, Evans 2004). L'éthylène interviendrait également dans l'induction des gènes qui concernent l'activation de la fermentation éthanolique (Peng *et al.* 2001). Le mode d'action de l'éthylène est complexe, en interaction avec d'autres hormones végétales, en particulier les gibbérellines et l'acide abscissique (Steffens *et al.* 2006). Les autres hormones végétales sont peu étudiées dans les réponses à l'ennoyage. Cependant, leurs rôles possibles, notamment de l'acide abscissique, des gibbérellines et des auxines, font l'objet d'un intérêt croissant (Dat *et al.* 2006).

Le NO est un métabolite connu pour être impliqué en conditions de stress. Il intervient dans les processus de signalisation, dans les réponses des plantes à une grande variété de stress environnementaux (Durner et Klessig 1999, Stöhr et Stremlau 2006). Sous anoxie, l'activation de la NR est directement impliquée dans la production de NO (Rockel *et al.* 2002, Dordas *et al.* 2003a, Crawford 2006, Stöhr et Stremlau 2006). Le NO qui interagit avec une hémoglobine non symbiotique pourrait être l'une des premières molécules signal produite en condition d'ennoyage (Dordas *et al.* 2003b). Dans les racines en conditions d'hypoxie, les mitochondries seraient également à l'origine de la production de NO. Elles participent à la réduction des nitrites en NO lorsque les teneurs en oxygène sont faibles, ce qui peut constituer un signal déclenchant des adaptations métaboliques, notamment l'induction de l'AOX une oxydase alternative (Tischner *et al.* 2004, Gupta *et al.* 2005, Planchet *et al.* 2005).

La chute du pH cytosolique liée au déficit de la charge énergétique est l'une des premières modifications cellulaires qui fait suite à l'ennoyage (§ II.4.4, p 30). Ce phénomène basique

pourrait constituer un signal précoce du déficit en oxygène. L'acidification du cytosol conduit à une cascade d'événement entraînant des modifications de l'expression génique (Gibbs et Greenway 2003).

Les ROS sont des molécules toxiques qui se comportent également comme des agents actifs impliqués dans de multiples voies de signalisation cellulaire. Ils sont à l'origine de l'activation du système de détoxification mais aussi de la stimulation de la fermentation alcoolique (Klok *et al.* 2002, Fukao et Bailey-Serres 2004). Les ROS ont également été identifiés dans la signalisation des processus de développement à l'échelle de la plante entière, dans la régulation de la mort cellulaire programmée (Van Breusegem et Dat 2006). Selon la concentration cellulaire en ROS, la mort cellulaire est orientée soit vers des phénomènes de type nécrotique ou programmé.

Il existe également des systèmes de signalisation liés aux glucides. La disponibilité en hydrates de carbone dans les cellules joue un rôle clé dans les modifications du fonctionnement métabolique. Il existe une perception des teneurs en sucres ("*sugar sensing*", Koch *et al.* 2000, Koch 2004) directement impliquée dans la régulation du métabolisme carboné, notamment sous anoxie. Ce signal intervient au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel dans la régulation des voies de dégradation des glucides.

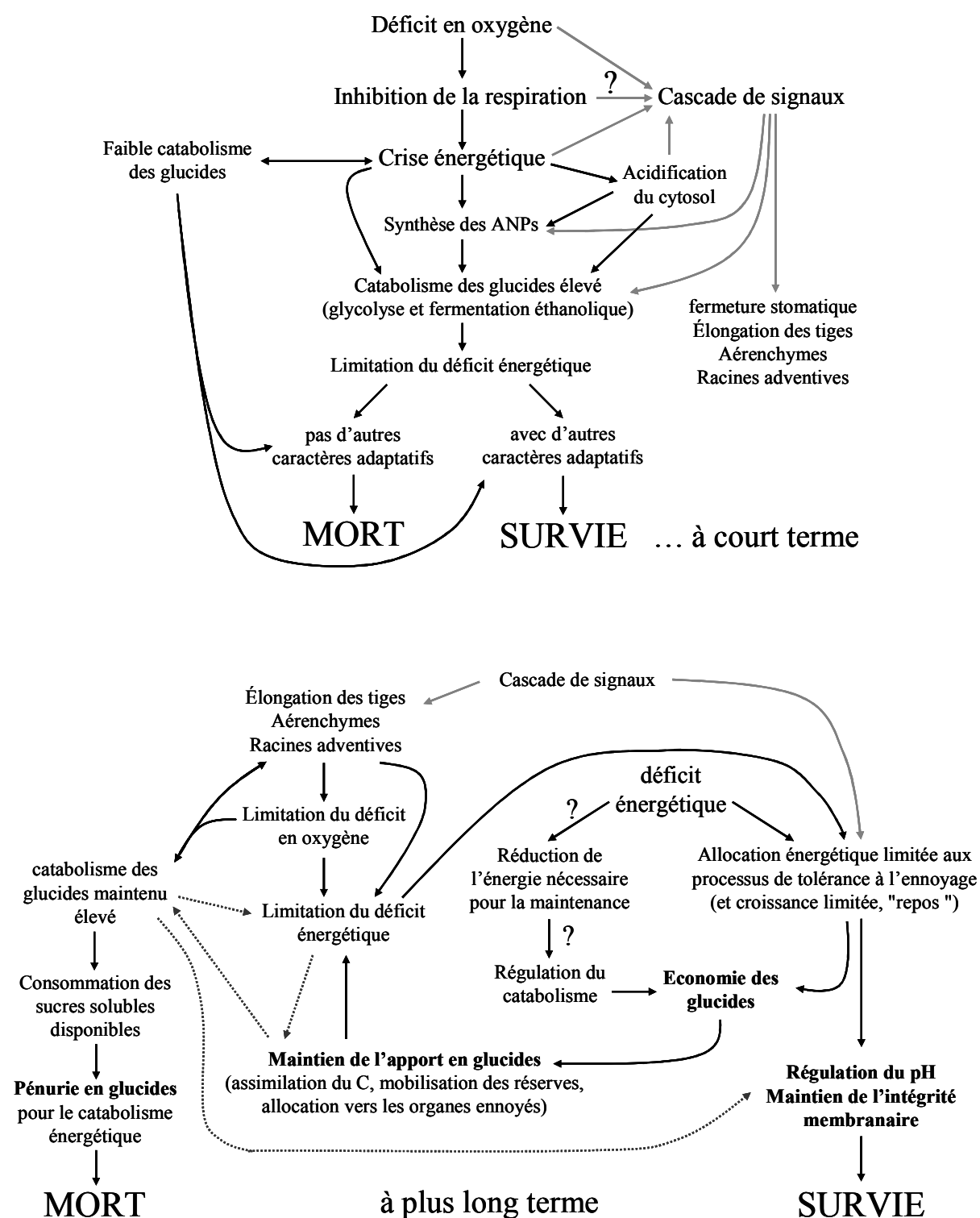


Figure SB-5. Réponses des plantes exposées à des phénomènes d'ennoyage de courte durée (quelques heures à quelques jours) et de longue durée (quelques jours à plusieurs semaines). Adaptée de Gibbs et Greenway (2003).

II.5 Gestion des réserves glucidiques

Les glucides sont les composés de stockage énergétique les plus importants des plantes et sont indispensables au catabolisme énergétique. Or, en condition d'ennoyage, l'inhibition de l'assimilation du carbone (§ II.4.3.3, p 28) affecte directement les réserves glucidiques et la disponibilité en hydrates de carbone. De plus, l'ennoyage réduit le transfert des produits issus de la photosynthèse depuis les sources foliaires vers les puits racinaire (Kozlowski 1997, Chen *et al.* 2005). Chez les espèces sensibles, pendant l'ennoyage il est courant d'observer une accumulation d'amidon dans les feuilles couplée à l'inhibition de la photosynthèse (Liao et Lin 1994, Gravatt et Kirby 1998). Chez les arbres ennoyés, l'alimentation des racines en hydrates de carbone, via le flux phloémique, conditionnerait en grande partie leur capacité à maintenir un niveau énergétique suffisant dans les racines (Gravatt et Kirby 1998, Kreuzwieser *et al.* 2004).

Les espèces qui possèdent de larges réserves glucidiques (notamment d'amidon) avant d'être exposées à des conditions d'ennoyage montrent souvent une tolérance accrue (Gravatt et Kirby 1998, Das *et al.* 2005). Cependant, la taille des réserves glucidiques n'est pas un critère suffisant de tolérance à l'ennoyage. L'amidon doit d'abord être hydrolysé en sucres simples pour être utilisé comme source énergétique. En conditions d'ennoyage, les rhizomes de *Acorus calamus*, une espèce tolérante, montrent une forte mobilisation des réserves amylacées, ce qui n'est pas le cas chez les tubercules de pomme de terre, espèce plus sensible (Arpagaus et Braendle 2000). Chez de nombreuses espèces, l'allocation des hydrates de carbone aux différents organes sous anoxie (*i. e.* les racines), est perçue comme l'étape limitante de la tolérance à l'ennoyage (Huang et Johnson 1995, Yamamoto *et al.* 1995, Angelov *et al.* 1996, Vartapetian et Jackson 1997, Gravatt et Kirby 1998, Pezeshki 2001, Islam et Macdonald 2004).

Chez les jeunes semis les cotylédons représentent des réserves importantes, si leur mobilisation reste effective. La dégradation de l'amidon dans les cotylédons est réalisée par des hydrolases qui sont synthétisées sous l'action de gibbérellines au moment de la germination (Guignard 2000). L'hydrolyse de l'amidon produit des dextrines (fragments d'amidon de faible poids moléculaire), puis du maltose rapidement scindé en deux molécules de glucose (qui sont des sucres réducteurs). Le glucose est ensuite converti en saccharose qui est exporté au niveau des tissus puits. Toute une collection d'enzyme est nécessaire pour dégrader l'amidon : α -amylases, β -amylases, α -glucosidases et *debranching* enzymes, mais seule l' α -amylase est considérée comme ayant un rôle majeure dans l'hydrolyse de l'amidon (Dunn 1974, Sun et Henson 1991). En conditions d'ennoyage, chez les plantules des espèces tolérantes l'utilisation de l'amidon des réserves cotylédonaires est stimulée, alors qu'elle est inhibée chez les espèces plus sensibles (Guglielminetti *et al.* 1995b, Perata *et al.* 1997, Mustroph et Albrecht 2003). Il est possible d'observer une forte corrélation entre l'activité de l' α -amylase, la disponibilité en sucre soluble et le taux de production d'éthanol (via la glycolyse suivie de la fermentation alcoolique), également corrélée avec les teneurs en ATP et la tolérance des espèces (Kato-Noguchi *et al.* 2008).

Même si la conversion des voies respiratoires vers les voies fermentaires s'établit rapidement, en raison du faible rendement en équivalents ATP de ces processus, le métabolisme carboné et énergétique des arbres est fortement affecté par le manque d'oxygène (Kreuzwieser *et al.* 2004). A long terme, la survie en milieu hypoxique ne passe pas forcément par une forte activité des voies fermentaires. Il existe une forme de compétition dans l'utilisation des hydrates de carbones entre la croissance et la production d'énergie pour la maintenance, dont l'équilibre apparaît primordiale (Setter *et al.* 1997). La régulation de l'énergie allouée dans la maintenance, par une faible activité se limitant aux processus essentiels à la survie, permettrait de réduire le taux du catabolisme et ainsi d'économiser les hydrates de carbone (Armstrong *et al.* 1994, Gibbs et Greenway 2003). Cette stratégie d'économie pour survivre à une longue période privée d'oxygène s'accompagne d'une réduction de la consommation d'ATP (§ II.4.4, p 30). L'accès aux réserves glucidiques et leur mobilisation restent cependant indispensables. De nombreuses espèces tolérantes à l'ennoyage montrent une stratégie d'économie, avec une croissance très réduite pendant la période de stress (Parolin 2001a, Greenway et Gibbs 2003, Schlüter et Crawford 2003, Yamanoshita *et al.* 2005). Dans le cas contraire, si le catabolisme est maintenu à un niveau élevé, la plante risque d'épuiser ses réserves glucidiques. Lorsque les réserves glucidiques ne sont pas accessibles, ou si elles s'épuisent, les voies glycolytiques et fermentaires ne sont plus alimentées, entraînant une crise énergétique qui conduit à la mort (Figure SB-5, Gibbs et Greenway 2003, Greenway et Gibbs 2003).

II.6 Perturbations de la nutrition minérale

Les modifications induites par l'ennoyage sur les éléments minéraux via la microflore du sol (§ II.3, p 16) et la détérioration du système racinaire (§ II.4.3.1, p 21) peuvent être à l'origine de perturbations de la nutrition minérale des plantes. Chez de nombreuses espèces, l'ennoyage conduit à une réduction de l'absorption de la majorité des éléments minéraux, à l'exception du Fe et du Mn dont la disponibilité est augmentée (Gutierrez Boem *et al.* 1996, Kozlowski 1997, Xu *et al.* 1997, Pezeshki *et al.* 1999, Puiatti et Sodek 1999, Thomas et Sprenger 2008). L'arrêt de la croissance et la diminution de la respiration racinaire sous hypoxie peuvent être à l'origine d'une chute de l'absorption des éléments minéraux (Marschner 1995, Puiatti et Sodek 1999). Cependant, les perturbations de l'alimentation minérale liées à l'ennoyage semblent variables selon les espèces et les caractéristiques du sol. Chez les chênes, en conditions d'ennoyage peu de variations des concentrations en P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ et S ont été observées (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Dreyer 1994, Gérard 2003). Dans le substrat de culture des expériences présentées par ces auteurs, la disponibilité de ces éléments minéraux est peu affectée par l'ennoyage. En revanche, les phénomènes de dénitrification conduisent à des carences en azote dans les sols ennoyés (§ II.3, p 17). Chez les arbres, l'ennoyage affecte souvent la nutrition azotée et le métabolisme azoté, proportionnellement à leur sensibilité (Kreuzwieser *et al.* 2002). Chez les semis de chêne

ennoyés, une diminution de l'allocation azotée a pu être constatée notamment dans les feuilles (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Kreuzwieser *et al.* 2002, Alaoui-Sossé *et al.* 2005).

Nutrition azotée

Après l'eau, l'azote constitue le principal facteur limitant de la croissance des plantes. Les plantes s'approvisionnent en azote en utilisant essentiellement deux formes minérales : l'ammonium NH_4^+ et le nitrate NO_3^- (Marschner 1995, Morot-Gaudry 1997). En forêt, près de 90% de l'azote réside sous différentes formes organiques, séquestrées dans la biomasse végétale ou animale, la litière ou le sol. L'azote minéral échangeable ou en solution dans le sol (NO_3^- et NH_4^+), qui est directement assimilable par les plantes et les microorganismes, ne représente qu'une faible proportion de l'azote total. Dans la majorité des sols, le NO_3^- est la forme d'azote minérale prédominante. C'est la principale source d'azote utilisée chez la plupart des végétaux supérieurs (Fernandes et Rossiello 1995). Cependant, chez les plantes adaptées à des sols pauvres en NO_3^- , les ions NH_4^+ sont davantage utilisés, comme par exemple chez de nombreuses espèces résineuses (Marschner 1995). Dans les sols, lorsque les conditions sont défavorables à la nitrification, le NH_4^+ est alors la forme minérale azotée prédominante. C'est une situation habituelle des sols acides pauvres et qui s'observe également dès que l'aération est déficiente. En conditions d'ennoyage, l'ammonium devient généralement la principale forme d'azote minérale disponible, alors que les nitrates disparaissent (§ II.3, p 17).

Nitrate

L'absorption du nitrate du sol par les racines est un processus actif. L'assimilation du nitrate et sa réduction en ammonium est réalisée par deux enzymes : la nitrate réductase (NR), cytosolique, et la nitrite réductase dans des plastes (Figure SB-6). La NR est régulée à différents niveaux : d'abord par l'expression génique, qui contribue au contrôle de la quantité de protéine NR synthétisée, et par son niveau de dégradation (Marschner 1995). Ensuite, l'activité NR est régulée par la modification réversible de la protéine, par phosphorylation ou déphosphorylation, correspondant respectivement à la forme inactive et active (Kaiser *et al.* 1999, Kaiser et Huber 2001). La synthèse de la NR est notamment induite par son substrat, les nitrates. En fait, les nitrates stimulent l'ensemble des enzymes impliquées dans l'assimilation de l'azote (Mattana *et al.* 1996, Mattana *et al.* 1997). En conditions d'anoxie, les voies d'assimilation du nitrate restent opérationnelles (Müller *et al.* 1994, Mattana *et al.* 1997). En condition d'aérobie, les enzymes NR racinaires sont fortement phosphorylées et donc peu actives, alors qu'en conditions d'anoxie l'activation de la NR par déphosphorylation a été rapportée chez plusieurs espèces : chez l'orge (Botrel et Kaiser 1997), le concombre (de la Haba *et al.* 2001), le tabac (Stoimenova *et al.* 2003). Les mécanismes d'activation des enzymes NR lors d'un déficit en oxygène restent cependant mal compris. Une baisse du pH peut largement contribuer à cette activation (Botrel et Kaiser 1997, de la Haba *et al.* 2001, Kaiser *et al.* 2002) mais d'autres facteurs serraient impliqués (Kaiser et Huber 2001).

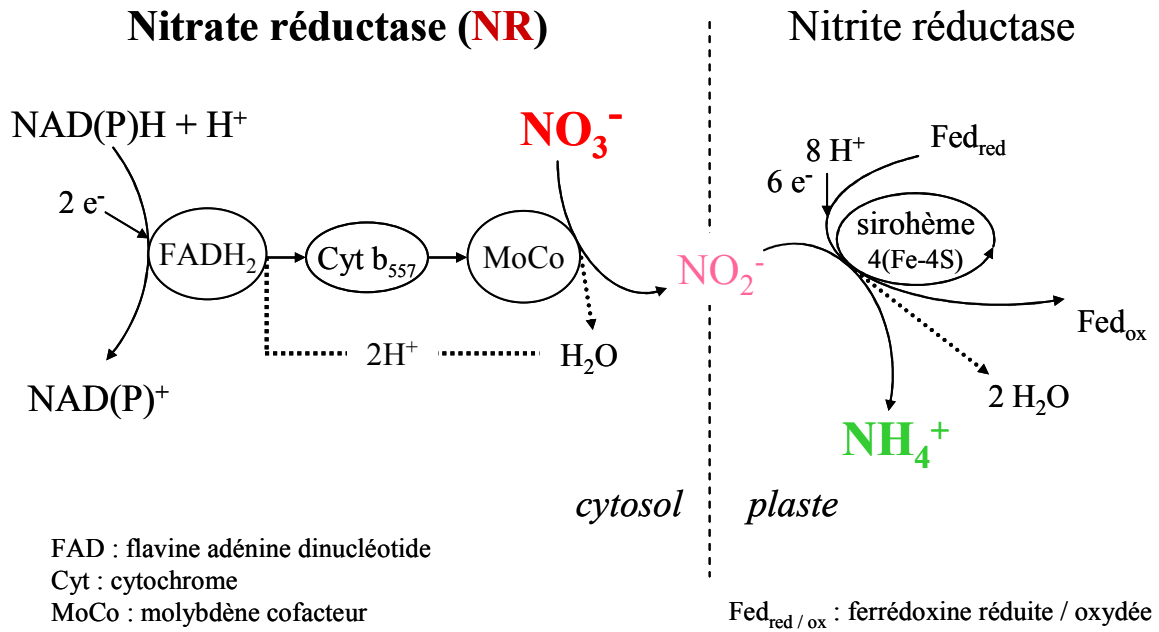


Figure SB-6. Réduction des nitrates en nitrites par la NR et réduction des nitrites en ammonium par la nitrite réductase.

Ammonium

L'absorption de l'ammonium est un phénomène passif lorsqu'il s'agit de la diffusion de la forme neutre, NH_3 , à travers la membrane plasmique, ou un mécanisme actif de transfert de la forme chargée, NH_4^+ . Les mécanismes actifs font intervenir des pompes à protons ATP-ase dépendantes. Une forte absorption d'ammonium entraîne généralement une acidification du cytosol. De plus, l'ammonium est un composé relativement toxique qui n'est pas accumulé par la plante. Il est rapidement incorporé dans les composés organiques (Marschner 1995). L'assimilation de l'ammonium se fait par deux voies biochimiques : la glutamate déshydrogénase (GDH) et par le cycle glutamine synthétase (GS) - glutamate synthase (GOGAT, pour glutamine oxo-glutarate amino transférase). La GDH catalyse la formation réversible du glutamate à partir de l'ion ammonium et de l' α -cétoglutarate. Le cycle GS-GOGAT est considéré comme la voie majeure de l'assimilation de l'ammonium chez les végétaux supérieurs (Oaks 1994, Marschner 1995). La GS catalyse l'amination du glutamate pour former la glutamine. Ensuite, par l'intervention de la GOGAT, le NH_2 du groupement amide de la glutamine est transféré sur l' α -cétoglutarate, issu du cycle tricarboxylique, pour former deux molécules de glutamate (Figure SB-7). La GS a une très forte affinité pour NH_3 . Quant à la GDH, elle a une faible affinité pour NH_3 et devient importante lorsque les teneurs en ammonium deviennent élevées, notamment si le pH de la solution nutritive est faible (Marschner 1995). Cependant, en conditions d'ennoyage la GS-GOGAT apparaît prédominante dans l'assimilation de l'ammonium et la GDH serait plutôt liée à l'assimilation des nitrates via la NR (Fan *et al.* 1997). Chez le riz, l'activité des enzymes du cycle GS-GOGAT reste opérationnelle en conditions d'anoxie (Mattana *et al.* 1997). En condition

d'ennoyage la composition des acides aminés est généralement modifiée, les teneurs en aspartate et en glutamate diminuent alors que celles en alanine et en GABA augmentent (Gibbs et Greenway 2003, Reggiani et Bertani 2003). Ces acides aminés joueraient un rôle dans le maintien du potentiel osmotique et leurs voies de synthèse contribuent à la régulation du pH (§ II.4.4 p 30). La synthèse de l'alanine à partir du pyruvate et du glutamate permet également de régénérer l' α -cétoglutarate, nécessaire à l'activité GS-GOGAT pour l'assimilation de l'ammonium (Figure SB-8).

Glutamine synthétase (GS) et glutamate synthase (GOGAT)

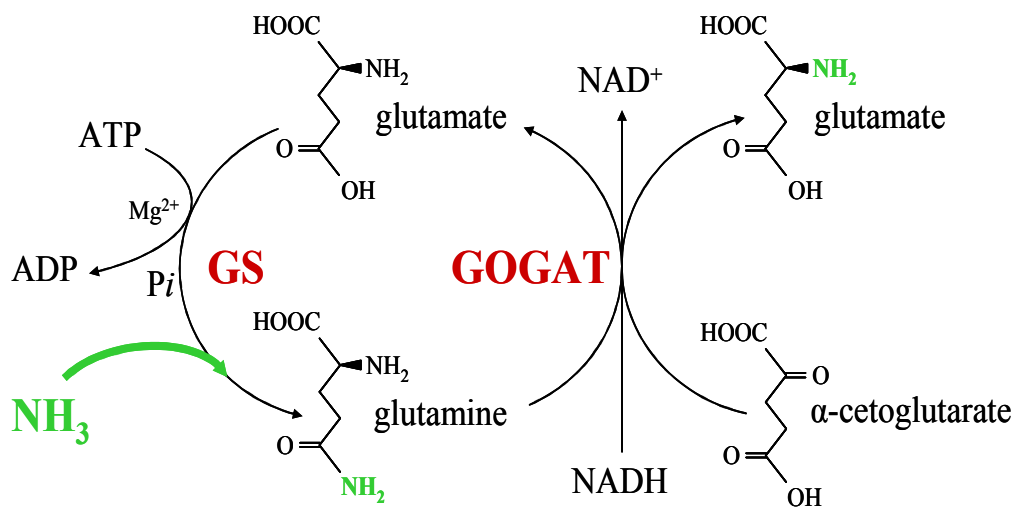


Figure SB-7. Incorporation de l'ammoniac dans les acides aminés par le système GS-GOGAT : fixation de l'ammoniac par la GS et transfert du NH_2 de la glutamine sur le glutamate par la GOGAT.

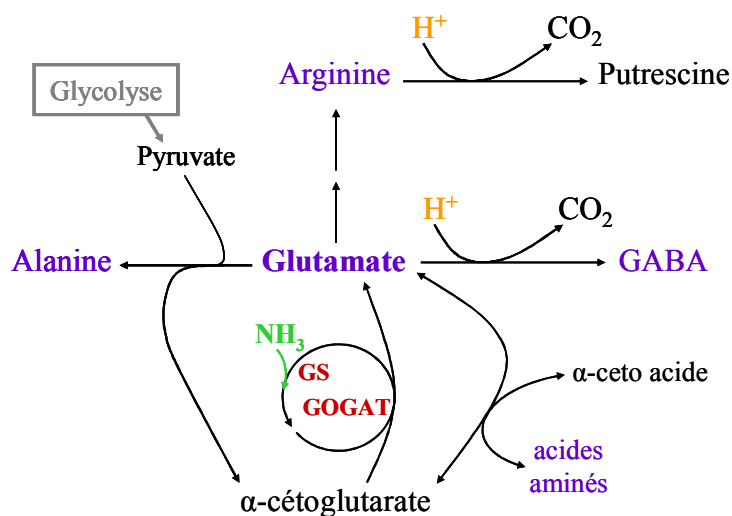


Figure SB-8. Voies de synthèse d'acides aminés à partir du glutamate. La synthèse de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) et de la putrescine à partir de l'arginine, qui sont stimulées sous anoxie, permettent la consommation de protons (Reggiani et Bertani 2003). La stimulation de la synthèse d'alanine à partir du pyruvate et du glutamate permet de régénérer l' α -cétoglutarate, nécessaire à l'activité GS-GOGAT pour l'assimilation de l'ammonium.

III. Matériels et méthodes

III.1 Matériel végétal et conditions de culture

III.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé provenait dans un premier temps d'arbres de la forêt de Courcelles, aux environs de Montbéliard (Doubs, France). Les semis issus de ces glands sont qualifiés semis d'origine "Montbéliard" dans la suite du manuscrit. Dans un second temps, le matériel végétal utilisé provenait de glands acheté à l'Office National des Forêts, les semis issus de ces glands sont qualifiés semis d'origine "ONF". Les glands d'origine "Montbéliard" ont été utilisés uniquement pour la première expérience (E-1). Les glands d'origine "ONF" ont été utilisés pour toutes les expériences suivantes (E-2 à E-5).

Origine "Montbéliard"

Les glands ont été récoltés sur un chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et un chêne sessile (*Quercus petraea* [Matt] Liebl.) isolés. Les récoltes ont eu lieu au mois de septembre avant l'ancrage de la racine dans le sol. Les glands sont ensuite lavés à grande eau, immergés 2h30 dans un bain d'eau à 40°C et séchés rapidement sur du papier absorbant. Les glands sont ensuite traités par 10 min d'immersion dans une solution à 3 g.L⁻¹ d'eau de fongicide polyvalent (Dithane jardin en poudre – Fertiligène, constituée à 75% de mancozèbe). Ensuite les glands sont étalés en couches, sans rinçage ni essuyage, dans de la vermiculite maintenue humide. Ils sont ensuite stockés à 4°C et à l'obscurité.

Origine "ONF"

Les glands d'origine "ONF" correspondent aux glands commandés au service graines et plants de l'Office National des Forêts. Tous les glands de chêne pédonculé (*Q. robur*) proviennent du nord ouest de la France (réf. QRO100) et ceux de chêne sessile (*Q. petraea*) proviennent du sud du bassin parisien (réf. QPE105). Après réception, les glands d'origine "ONF" sont stockés à 4°C à l'obscurité, dans de la vermiculite maintenue humide.

III.1.2 Préparation des semis

Les glands sont débarrassés de leurs enveloppes séminales (péricarpe et téguments) puis rincés à l'eau courante pendant 24 heures afin de provoquer leur imbibition complète et d'éliminer les tanins. La germination des glands s'effectue dans des pots remplis d'un mélange de perlite/vermiculite, 1/1 (v/v), saturé en eau et placés à l'obscurité à 22°C. Après 7 à 10 jours de germination les jeunes semis sont transplantés. Leur racine pivot mesure entre 3

et 6 cm de longueur, la tige ne mesure que quelques mm et les deux cotylédons sont à peine écartés.

Une expérience a été réalisée pour évaluer l'importance de la photosynthèse cotylédonaire sur l'évolution des réserves glucidiques des cotylédons. Pour cette expérience, au moment de la transplantation des semis, chaque cotylédon est délicatement enveloppé dans du papier d'aluminium.

III.1.3 Substrat de culture

Le substrat de culture est constitué d'un mélange de sol forestier et de tourbe. Ce sol provient de la forêt domaniale de Bethoncourt (Doubs, France). Il s'agit d'un peuplement de charme en taillis vieillissant sous futaie de chêne sessile. Aucune fosse n'ayant été réalisée, la description du profil n'est que très partielle mais donne une indication sur la nature du sol prélevé. Il s'agit d'un sol argilo-limoneux meuble bien structuré (structure polyédrique fine) et bien drainé, à eumull. Le sol proprement dit, débarrassé de la couche d'humus, est prélevé dans l'horizon supérieur, entre 5 et 40 cm de profondeur et à proximité d'un chêne, ce qui permet la présence de symbiotes mycorhiziens. Le sol est ensuite tamisé à 4 mm puis mélangé à de la tourbe noire dans les proportions 8/1 (v/v) terre/tourbe (caractéristiques de la tourbe en annexe 1). La tourbe permet d'éviter une compaction excessive de la terre dans les pots, elle permet notamment d'améliorer l'aération des témoins.

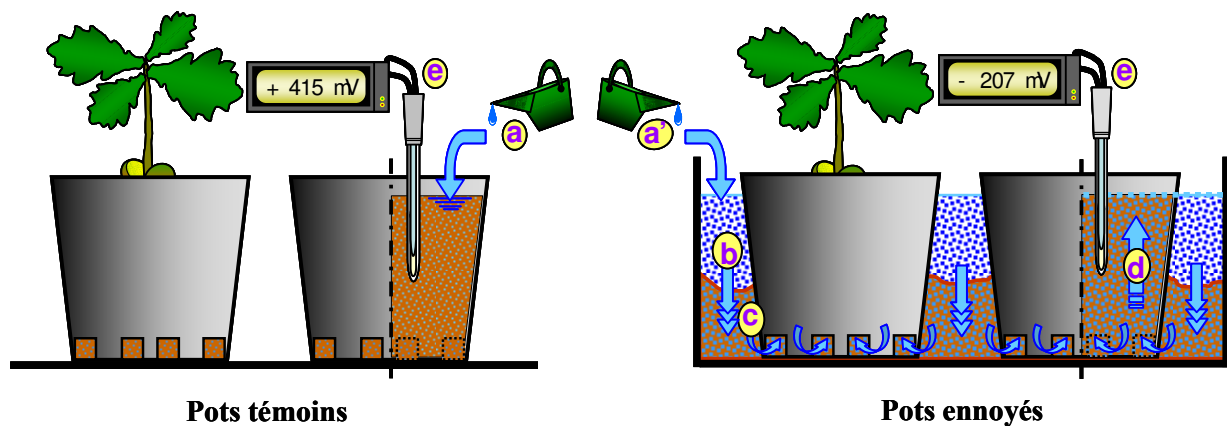


Figure MM-1. Schéma des pots de cultures des semis témoins et ennoyés. L'arrosage des pots témoins est réalisé directement dans le pot (a) pour atteindre 70% de la capacité au champ (par pesée). Les pots ennoyés sont placés dans des bacs dont le niveau d'eau est maintenu à la surface du substrat de culture des pots, par l'ajout de l'eau dans les bacs (a'). L'eau circule librement entre les pots. Cette eau s'infiltre dans la terre au fond des bacs (b) et pénètre dans les pots par les ouvertures du fond (c). L'eau s'infiltre lentement dans le substrat de culture des pots (d). Le substrat de culture des pots ennoyés est complètement saturé d'eau stagnante jusqu'à la surface. La mesure du potentiel d'oxydoréduction dans les pots permet de vérifier les conditions réductrices ou non du milieu (e).

III.1.4 Conditions de culture, d'arrosage, d'ennoyage et suivi du potentiel d'oxydoréduction

Les semis sont cultivés en conditions contrôlées, à 70% d'hygrométrie, avec une photopériode de 14 heures et 10 heures d'obscurité à 22 et 14°C respectivement. L'intensité lumineuse est de 300 à 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. La lumière est fournie par 8 lampes halogène HQI-T de 400 W ainsi que 2 lampes à sodium de 250 W. Les semis sont cultivés dans des pots horticoles en plastique de 2,5 L, de 25 cm de haut et 15 x 15 cm de large, dont le fond possède des ouvertures. Chaque pot contient une seule plante.

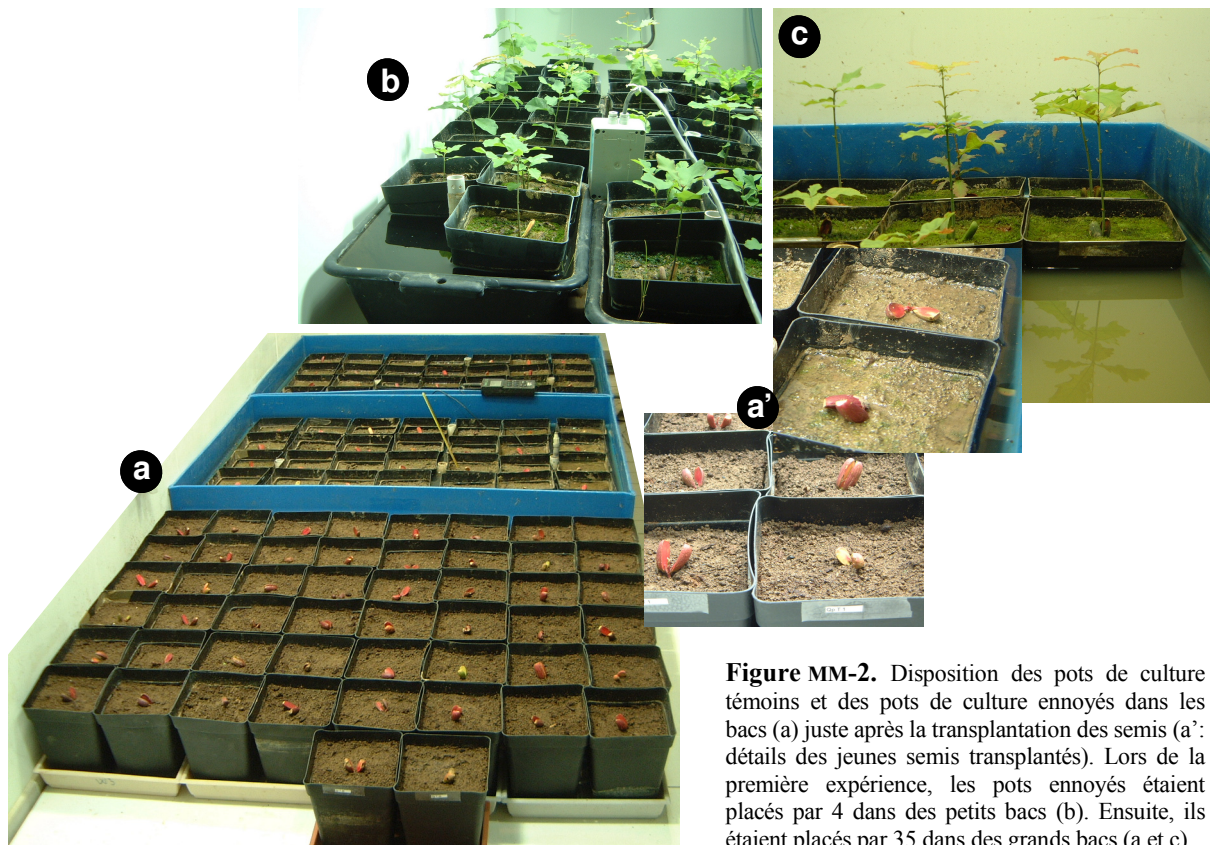


Figure MM-2. Disposition des pots de culture témoins et des pots de culture ennoyés dans les bacs (a) juste après la transplantation des semis (a' : détails des jeunes semis transplantés). Lors de la première expérience, les pots ennoyés étaient placés par 4 dans des petits bacs (b). Ensuite, ils étaient placés par 35 dans des grands bacs (a et c).

La teneur en eau et la capacité au champ du substrat de culture sont déterminées avant son utilisation. Chaque pot (témoin et ennoyé) contient la même masse de substrat de culture. Les pots sont préparés et placés en conditions "témoin" ou "ennoyage" un à deux mois avant la transplantation des semis. Cela permet l'acclimatation de la microflore, notamment dans les pots ennoyés, avec la mise en place de conditions réductrices (§ II.3, p 16). Les pots témoins sont arrosés tous les 3 jours de manière à maintenir le substrat de culture entre 70 et 60% de sa "capacité au champ". La quantité d'eau à apporter pour atteindre 70% de la "capacité au champ" est déterminée par la pesée de chaque pot. Les semis sont arrosés avec de l'eau déminéralisée. L'ennoyage est réalisé par le maintien d'une nappe d'eau à la surface du substrat de culture. Les pots ennoyés sont placés dans des bacs avec du substrat de culture entre les pots (Figure MM-1 et Figure MM-2). La mise à niveau de la nappe se fait à partir d'eau déminéralisée déversée lentement dans les bacs (et non directement dans les pots).

L'eau s'infiltre dans la terre au fond des bacs et remonte lentement dans les pots en passant par les ouvertures situées au fond de chaque pot (Figure MM-1). Cette pratique permet d'éviter une oxygénation des pots ennoyés, par agitation au moment de l'arrosage, sans avoir recours à une eau désoxygénée. Dans ces conditions, l'eau dans les pots ennoyés est véritablement stagnante, de manière comparable aux nappes d'eau stagnantes des stations hydromorphes. L'application d'un drainage sur des semis ennoyés est réalisée en sortant du bac les pots ennoyés concernés. Les pots ennoyés puis drainés sont ensuite arrosés de manière similaire aux témoins, dès que leur "capacité au champ" devient inférieure à 70%.

Tout au long des cultures, l'évolution du potentiel d'oxydo-réduction (Eh) est suivie avec une électrode combinée de platine raccordée à un appareil WTW (Allemagne). L'électrode est enfoncée directement dans le substrat de culture, à 7-8 cm de profondeur.

III.2 Récoltes des semis et cinétiques expérimentales

Le choix des dates des récoltes est basé sur des stades de développement des semis, suivant la croissance rythmique des chênes (décrite par Alatou *et al.* 1986 et Hanson *et al.* 1986, Figure MM-3a). Ensuite, il est apparu utile de réaliser également des récoltes en fonction de la durée de culture. La dénomination des récoltes fait référence soit à des stades de développement des semis : récoltes R1, Tg2 et R2 ; soit à une durée de culture : récoltes J15 et R1 D+10 (Figure MM-3).

Au cours de la première expérience, avec les glands d'origine "Montbéliard", les semis des deux espèces sont cultivés soit en conditions témoins (T), soit en conditions d'ennoyage (E). Dans cette expérience les récoltes ont eu lieu uniquement en fonction des stades de développement des semis (Figure MM-3). Pour une modalité donnée, espèces / traitement / récolte, les semis peuvent être récoltés à des âges différents (Tableau MM-1).

La première récolte est réalisée après le développement du premier étage, 2 à 3 jours après le début du repos apparent 1 (récolte **R1**).

La deuxième récolte est réalisée 1 à 2 jours après la fin de l'élongation de la tige du deuxième étage (récolte **Tg2**), c'est-à-dire pendant la phase maximale d'extension des feuilles du deuxième étage.

La troisième récolte est réalisée après le développement du deuxième étage, 2 à 3 jours après le début du repos apparent 2 (récolte **R2**).

Dans cette première expérience, aucun semis ennoyé de *Q. petraea* n'a développé un deuxième étage foliaire. Ces semis n'ont pas été récoltés à la récolte Tg2 et une récolte de ces semis a eu lieu en fin d'expérience, après 90 jours de culture. Les analyses concernant ces semis ennoyés de *Q. petraea* sont présentées avec celles des autres semis de la récolte R2.

a. Croissance rythmique des chênes

(Alatou *et al.* 1986, Hanson *et al.* 1986)

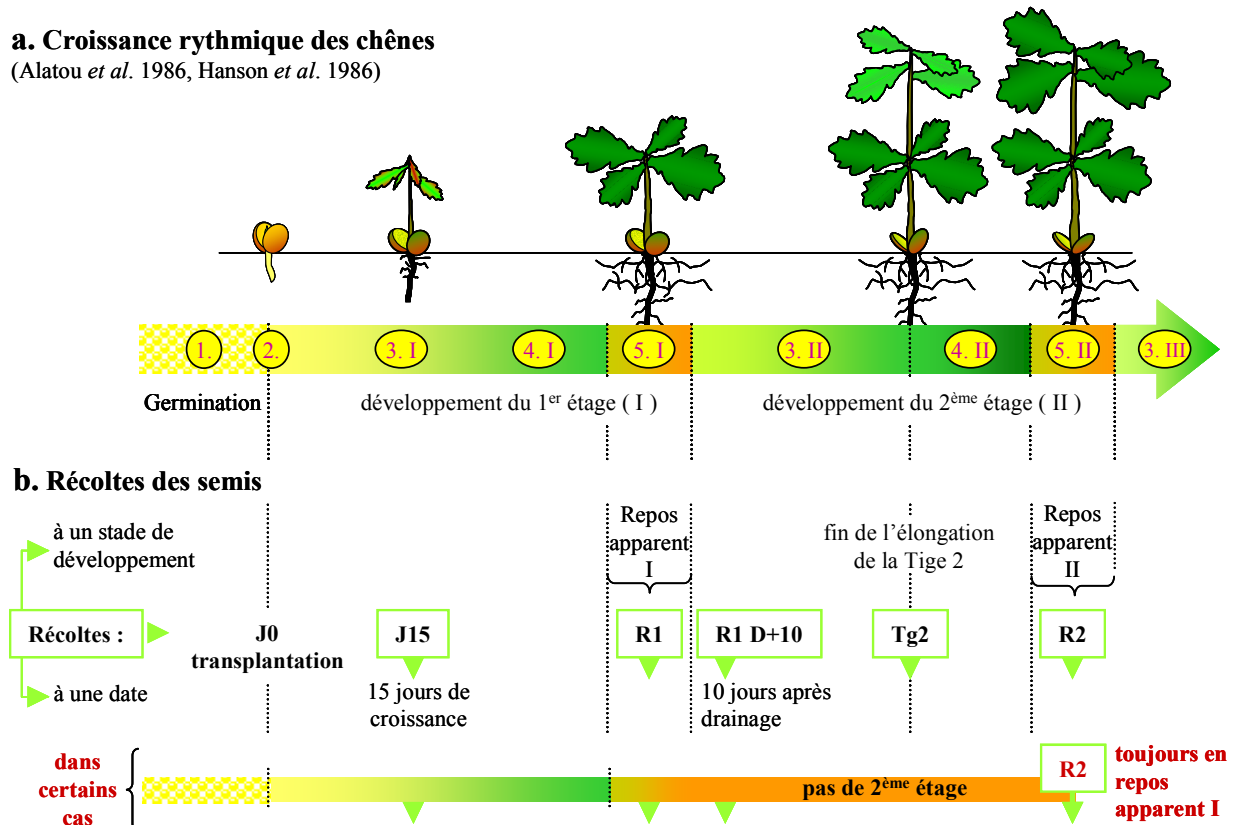


Figure MM-3. Représentation schématique de la croissance rythmique des chênes (a), les différentes étapes correspondent à : l'émergence de la racine (1), l'émergence de l'épicotyle (2), l'élongation linéaire de la tige de l'étage foliaire en développement (3), l'expansion foliaire linéaire (4) qui commence avec l'achèvement de l'élongation de la tige et se termine par l'achèvement de l'élongation des feuilles de l'étage foliaire en développement et, le repos apparent (5), période comprise entre l'achèvement d'une unité de croissance et le développement de l'unité suivante. Lors du développement de chaque unité de croissance (étage foliaire), ces trois dernières étapes (3, 4, 5.) sont similaires. Un suffixe numérique permet de désigner l'étage en développement correspondant (I, II, ...). Les récoltes des semis sont réalisées en fonction des stades de développement des chênes ou à une date précise (b). Dans les cas où les semis n'ont pas développé de 2^{ème} étage, la récolte R2 concerne des semis en phase de repos apparent II et des semis qui n'ont qu'un seul étage. Selon les expériences, toutes les récoltes (▼) des semis en conditions de culture témoin (T), ennoyé (E) et ennoyé puis drainé (ED) ne sont pas effectuées (c). Le nombre de semis qui ont développé un 2^{ème} étage à la récolte R2 est précisé dans le **Tableau MM-1**.

Au cours des expériences suivantes, réalisées avec les glands d'origine "ONF", les semis des deux espèces sont également cultivés soit en conditions témoin (T), soit en conditions d'ennoyage (E) et en plus un lot de semis est ennoyé puis drainé (ED). Le drainage des semis ennoyés est réalisé après le développement du premier étage, pendant leur phase de repos apparent 1 (suite à la récolte R1). Dans ces expériences, deux récoltes sont réalisées en fonction du stade de développement des semis et deux autres récoltes sont réalisées après un certain temps de culture (Figure MM-3). Pour une récolte donnée, les semis T, E et ED des deux espèces peuvent être récoltés à un âge différent (Tableau MM-1). Cependant, contrairement à la première expérience, pour une modalité donnée, espèces/traitement/récolte, les semis sont récoltés le même jour. Toutes les récoltes n'ont pas été réalisées au cours des différentes expériences (Figure MM-3).

La première récolte est réalisée une quinzaine de jours après la transplantation des semis, alors que la tige est en pleine croissance et les feuilles sont à peine développées (récolte **J15**).

La deuxième récolte est réalisée après le développement du premier étage, pendant le repos apparent 1 (récolte **R1**), avec des semis qui sont en phase de repos apparent depuis 2 à 6 jours.

La troisième récolte sert à évaluer l'effet du drainage à court terme, elle est réalisée 10 jours après le drainage des semis ennoyés (récolte **R1 D+10**). A cette récolte certains semis sont encore en phase de repos apparent alors que d'autres entament le deuxième étage (principalement chez les témoins).

La quatrième récolte est réalisée après le développement du deuxième étage, pendant le repos apparent 2 (récolte **R2**), avec des semis qui sont en phase de repos apparent depuis 2 à 6 jours. Cependant, dans ces expériences avec les glands d'origine "ONF", certains semis (des deux espèces) n'ont pas développé un deuxième étage. La récolte R2 est en fait réalisée avec un certain nombre de semis qui n'ont développé qu'un seul étage. Pour les analyses de la récolte R2, ces semis sont rassemblés avec ceux qui ont développé un deuxième étage. Le nombre de semis qui ont développé ou non un deuxième étage est indiqué dans le Tableau MM-1.

Les expériences et les analyses qui y sont associées sont également précisées dans le Tableau MM-1 et le Tableau MM-2.

L'ensemble des cultures est utilisé pour l'étude de la croissance et du développement des semis. La première expérience, avec les semis d'origine "Montbéliard", concerne essentiellement l'étude de la répartition des réserves glucidiques, notamment amylacées, et l'étude de l'architecture racinaire. Une autre expérience avec les semis d'origine "ONF" a été réalisée uniquement pour compléter l'étude de l'architecture racinaire, avec notamment la modalité "ennoyage puis drainage". Les expériences avec les semis d'origine "ONF" ont servi à compléter l'étude des réserves glucidiques, notamment cotylédonaire, et à mesurer les activités amylasiques des cotylédons. Une expérience a servi uniquement à évaluer l'importance de la photosynthèse cotylédonaire sur les teneurs glucidiques des cotylédons (photosynthèse cotylédonaire bloquée). Deux expériences sont utilisées pour l'étude de l'assimilation de l'azote, à travers les activités enzymatiques de la nitrate réductase et de la glutamine synthétase, dont une expérience fournit les principaux résultats concernant l'allocation azotée.

Tableau MM-1 Ages, en jours, des semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Q. robur* et de *Q. petraea* aux différentes récoltes (J15, R1, R1 D+10, Tg2 et R2) réalisées au cours de chaque expérience (E-1 à E-5). L'âge des semis est calculé à partir du jour de leur transplantation (la période de germination de 7 à 10 jours n'est pas prise en compte). Le symbole - indique que la récolte n'a pas eu lieu. Lorsqu'à une récolte donnée les semis n'ont pas le même âge, les moyennes \pm erreurs standards sont indiquées (expérience E-1). Pour les semis ennoyés puis drainés, l'âge des semis au moment du drainage est indiqué en italique (*D*). Pour la récolte R2, la présence du 2^{ème} étage foliaire des semis récoltés est précisée entre parenthèses. Les principales analyses associées à chaque expérience sont également précisées.

Expériences, espèces, traitements			âges des semis aux différentes récoltes (j)						principales analyses
			J15	R1	<i>D</i>	R1 D+10	Tg2	R2 (2 ^{ème} étage)	
E-1	<i>Q. robur</i>	T	-	41	-	-	61 \pm 6	67 \pm 3 (oui)	réserves glucidiques carbone organique total architecture racinaire teneurs en chlorophylles
		E	-	44 \pm 4	-	-	69 \pm 6	78 \pm 7 (oui)	
	<i>Q. petraea</i>	T	-	34	-	-	72 \pm 4	69 \pm 10 (oui)	
		E	-	35	-	-	-	90 (non)	
	<i>Q. robur</i>	T	15	37	-	54	-	-	
		E	15	37	42	48	-	-	
E-2	<i>Q. robur</i>	ED	-	-	-	52	-	-	réserves glucidiques des cotylédons dont la photosynthèse est bloquée
	<i>Q. petraea</i>	T	16	38	-	47	-	-	
		E	16	38	38	48	-	-	
	<i>Q. robur</i>	ED	-	-	-	48	-	-	
E-3	<i>Q. robur</i>	T	-	37	-	-	-	84 (3/5)	architecture racinaire
		E	-	37	-	-	-	89 (1/5)	
	<i>Q. petraea</i>	ED	-	-	42	52	-	87 (4/5)	
	<i>Q. robur</i>	T	-	38	-	-	-	85 (3/5)	
		E	-	38	39	49	-	88 (1/5)	
E-4	<i>Q. robur</i>	ED	-	-	-	48	-	87 (oui)	réserves glucidiques et activités amylasiques des cotylédons teneurs en azote du sol activités nitrate réductase teneurs en acides aminés azote total, soluble et insoluble
	<i>Q. petraea</i>	T	15	34	-	47	-	69 (oui)	
		E	15	34	36	48	-	82 (2/5)	
	<i>Q. robur</i>	ED	-	-	-	46	-	82 (oui)	
E-5	<i>Q. robur</i>	T	15	34	-	47	-	69 (oui)	teneurs en azote du sol activités glutamine synthétase teneurs en protéines
		E	15	34	36	48	-	82 (3/5)	
	<i>Q. petraea</i>	ED	-	-	-	46	-	82 (oui)	
	<i>Q. robur</i>	T	15	29	-	43	-	73 (oui)	
		E	15	29	32	42	-	77 (non)	
E-5	<i>Q. robur</i>	ED	-	-	-	42	-	87 (oui)	teneurs en azote du sol activités glutamine synthétase teneurs en protéines
	<i>Q. petraea</i>	T	15	30	-	43	-	74 (oui)	
		E	15	30	32	43	-	77 (non)	
	<i>Q. robur</i>	ED	-	-	-	42	-	88 (4/5)	

III.3 Analyses du substrat de culture

III.3.1 Echantillonnage du sol rhizosphérique

Les analyses du substrat de culture ont été réalisées uniquement lors des deux expériences menées pour l'étude de l'efficacité de l'utilisation de l'azote, avec les mesures des activités enzymatiques de la nitrate réductase et de la glutamine synthétase. Les prélèvements de sol rhizosphérique sont réalisés pour chaque semis récolté. Dans l'environnement proche des racines, le substrat grossièrement attaché au système racinaire est récupéré et homogénéisé. En complément, des prélèvements ont été réalisés sur le sol forestier tamisé avant l'ajout de la tourbe, puis sur le substrat de culture (sol avec tourbe) au moment de la préparation des pots (récolte initiale) et dans les pots témoins et ennoyés, le jour de la transplantation des semis (récolte J0).

Afin d'éviter des modifications des teneurs en azote minéral au cours de la conservation des échantillons, l'extraction de l'azote est effectuée dans les 24 heures sur les échantillons frais, conservés à 4°C (Viaux 1981). Les extraits sont ensuite rapidement congelés et conservés à -20°C jusqu'aux analyses. Au moment des extractions, une partie de chaque échantillon frais est directement séchée à l'étuve pour déterminer le rapport matière sèche / matière fraîche. Une autre partie des échantillons du sol est congelée et conservée à -20°C jusqu'à l'analyse des éléments minéraux.

III.3.2 Extraction et analyse des teneurs en azote du sol

L'extraction de l'azote du sol s'effectue par incubation de 10 g de sol frais dans 15 mL de KCl 2 M, au bain marie à 50°C pendant 1 h. Après 15 min de centrifugation à 1000 g, la solution est filtrée puis conservée à -20°C jusqu'à analyse.

Les dosages des nitrates et de l'ammonium sont réalisés en parallèle, par spectrophotométrie, avec un analyseur automatisé de type Skalar dont les principes sont résumés ci-après.

Les nitrates sont réduits en nitrites après passage dans une colonne de cadmium. Ensuite, en présence de sulfanilamide couplée à du N-(1-naphthyl)éthylène diamine dihydrochloride, il se forme avec les nitrites un diazo-complexe rose (mesuré à 540 nm, colonne Skalar n°27688).

Le dosage colorimétrique de l'ammonium se fait selon le principe de la réaction de Berthelot modifiée. L'ammonium est transformé en monochloramine en présence de dichloroisocyanurate (donneur de chlore) qui va réagir avec du salicylate pour former du 5-aminosalicylate. Après oxydation il se forme un complexe de bleu d'indophénol de coloration verte (mesuré à 660 nm, colonne Skalar n°27067) ; du nitroprussiate de sodium est utilisé pour catalyser la réaction.

III.3.3 Extraction et analyse des éléments minéraux du sol (Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn)

L'extraction des métaux totaux se fait à partir d'1 g de sol sec finement broyé (mortier automatique, Retsch RM100, garniture en Agathe), minéralisé en 2 h de chauffage à 150°C sur bloc de digestion Velp (avec réfrigérant à air) à l'eau régale : HNO₃ 65% (2,5 mL), HCl 35% (7,5 mL), dans des tubes Pyrex de 250 mL. Les extraits sont repris dans 80 mL d'eau distillée, centrifugés à 1500 g puis filtrés sur verre fritté.

Les minéraux échangeables sont extraits à partir de 10 g de sol sec finement broyé, mis 3 h sous agitation à 20°C dans 80 mL de BaCl₂ 0,1 M. Après centrifugation et filtration du surnageant (papier qualité analytique), l'extrait est acidifié avec 0,5 mL d'une solution de HNO₃ à 65% afin d'éviter la précipitation des métaux.

Les analyses sont ensuite réalisées par spectrométrie d'absorption atomique (système PERKIN-ELMER 3110) en mode flamme, sauf l'analyse du fer qui est réalisée en mode four. Les résultats sont présentés en Annexe 2.

III.4 Mesures des paramètres de croissance et de développement des semis

III.4.1 Longueurs, potentiel hydrique, surfaces foliaires et biomasses

Les mesures de croissance en hauteur ($\pm 0,1$ cm) sont effectuées à chaque récolte, depuis l'intersection des cotylédons jusqu'à l'extrémité de la pousse terminale. Immédiatement après la section du semis, à la base de la tige, le potentiel hydrique est déterminé par la méthode de la chambre à pression de Scholander. Sur les semis sacrifiés, la surface foliaire est mesurée pour chaque unité de croissance avec un planimètre (*Portable Area Meter*, Li-3000A, Li-Cor) et les valeurs sont exprimées en cm². Après dépotage, la longueur du pivot est mesurée ($\pm 0,1$ cm). A chaque prélèvement, les masses fraîches des différents organes (racines latérales, racine pivot, cotylédons, tiges et feuilles) sont déterminées puis les échantillons sont congelés à l'azote liquide. Les tissus sont ensuite lyophilisés à froid ou conservés à -80°C pour les dosages d'activité enzymatique *in vitro*. Dans le cas des dosages d'activités enzymatiques foliaires, pour chaque unité de croissance, les feuilles sont découpées en deux dans le sens de la longueur et séparées en deux lots. Ainsi, la moitié des feuilles est utilisée pour les dosages enzymatiques et l'autre moitié est lyophilisée pour les analyses biochimiques. Après détermination de la masse sèche, les échantillons lyophilisés sont réduits en poudre fine à l'aide d'un vibro-broyeur à billes (Retsch MM 200, Allemagne).

III.4.2 Architecture racinaire détaillée

Pour l'étude détaillée de l'architecture du système racinaire, celui-ci est très délicatement dégagé du substrat afin de le récupérer intact (avec les racines latérales encore fixées au pivot). Le système racinaire est nettoyé à l'eau puis le pivot est découpé en section de 2 cm de longueur à partir du niveau de l'insertion des cotylédons. Pour chaque section du pivot, les racines latérales sont dénombrées et leurs longueur sont mesurées ($\pm 0,1$ cm). La longueur des racines latérales est exprimée en longueur cumulée par section (somme de la longueur des racines latérales de chaque section). Les différentes sections du pivot sont congelées, lyophilisées et réduites en poudre séparément. Pour chaque semis, les racines latérales des différentes sections sont rassemblées.

III.4.3 Taux de croissance et de mobilisation des réserves cotylédonaires

Le taux de croissance relative, *relative growth rate* (RGR), est calculé à partir de la masse sèche (MS en g) des semis aux récoltes R_n et R_{n+1} selon la formule :

$(\ln MS_{R_{n+1}} - \ln MS_{R_n}) / (t_{R_{n+1}} - t_{R_n})$, avec t correspondant à la date de récolte en jours. Seules les récoltes R_1 et R_2 ont été utilisées pour le calcul des RGRs.

Le taux de mobilisation relatif des réserves cotylédonaires, *relative mobilization rate of reserves* (RMR), est calculé selon la méthode décrite par Santos et Buckeridge (2004), à partir des réserves cotylédonaires au temps initial ($RCot_{t_i}$) et des réserves cotylédonaires restante au moment des différentes récoltes ($RCot_{t_n}$) ; selon la formule : $(\ln RCot_{t_n} - \ln RCot_{t_i}) / (t_n - t_i)$, avec t en jours.

III.5 Analyses biochimiques

III.5.1 Extraction des glucides

Les échantillons (10 mg de poudre sèche) sont incubés avec 0,5 mL d'éthanol à 80% pendant 20 min à 80°C. Après 5 min de centrifugation à 10000 g, le surnageant est récupéré et le culot est lavé en renouvelant cette opération. Les surnageants constituent l'extrait de sucres solubles qui sont, le cas échéant, utilisés pour les différents dosages des sucres solubles. Quant aux culots, ils contiennent l'amidon qui reste insoluble dans l'éthanol.

L'amidon est extrait selon la méthode décrite par Outlaw et Manchester (1979), en reprenant le culot dans 1,5 mL d'une solution de KOH 0,2 M et d'éthanol 100 mM. Après agitation, une incubation de 20 min à 80°C est réalisée. Les échantillons sont ensuite placés à 4°C jusqu'au dosage de l'amidon. Pour les échantillons particulièrement riche en amidon, tel

que les cotylédons, afin de parfaitement solubiliser l'amidon sous l'action du KOH, il convient de laisser les extraits d'amidon reposer au moins 24h et de renouveler l'incubation de 20 min à 80°C avant analyse.

III.5.2 Dosage de l'amidon

L'amidon est dosé selon la méthode décrite par Outlaw et Manchester (1979), sous la forme d'un excès de glucose issu de l'hydrolyse de l'amidon de l'échantillon par l'amyloglucosidase. L'extrait d'amidon soluble est ensuite utilisé à raison de 100 μL par essai. L'hydrolyse de l'amidon en glucose est effectuée dans un tampon d'acétate 0,1 M à pH 4,75 (volume final de 700 μL), pendant 2 h d'incubation à 55°C, après l'ajout de 200 μL d'une solution d'amyloglucosidase (EC 3.2.1.3. de *Aspergillus niger*, 40 U.mg^{-1} , en suspension, Sigma) à 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, préparée en solution tampon acétate 0,1 M, pH 4,75. Après une centrifugation de 5 min à 5000 g, le glucose obtenu est dosé sur une prise d'essai de 500 μL du surnageant par une méthode colorimétrique (Nguyen *et al.* 1990). Ce dosage utilise le système enzymatique glucose oxydase et peroxydase (GOD-POD) en présence d'orthodiansidine. Le GOD oxyde le glucose en acide gluconique avec formation de H_2O_2 et, celui-ci, sous l'action de la POD, oxyde l'orthodiansidine (incolore à l'état réduit et rose à l'état oxydé). Le réactif GOD-POD est préparé en solution tampon Tris-HCl 200 mM à pH 7,5 à raison de 0,5 mg.mL^{-1} de GOD et 0,08 mg.mL^{-1} de POD (Glucose Oxydase (type II-S) 50000 U.g^{-1} et Peroxydase (type I) 50000 U.g^{-1} , Sigma), auquel on ajoute au dernier moment 1% (v/v) d'une solution d'orthodiansidine à 7 mg/mL. A la prise d'essai de 500 μL du surnageant (d'amidon hydrolysé en glucose) sont ajoutés 2 mL de réactif GOD-POD. La réaction se déroule à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 min. La coloration rose est ensuite révélée en milieu acide par l'ajout de 1 mL d'HCl 6 N. La lecture de la densité optique se fait à 530 nm. La gamme étalon est réalisée à partir d'une solution de glucose. Pour chaque échantillon un témoin sans amyloglucosidase est réalisé en parallèle afin de déterminer et de soustraire l'éventuelle quantité de glucose présente dans l'extrait avant l'hydrolyse de l'amidon. De plus, pour chaque extrait, le dosage de l'amidon est réalisé en double.

La teneur en amidon des échantillons est exprimée en mg d'équivalent glucose par g de matière sèche. La quantité totale d'amidon dans les organes des semis est calculée (pour chaque plant) à partir de la teneur en amidon de l'organe considéré multipliée par la masse sèche de cet organe. La quantité totale d'amidon dans un semis est calculée par l'addition des quantités totales d'amidon des différents organes.

III.5.3 Dosage du saccharose

Le saccharose est dosé avec un réactif à l'antrone selon la méthode de van Handel (1968). Une déshydratation forte du sucre par chauffage en milieu acide conduit à la formation d'un

dérivé furfural qui réagit avec l'anthrone pour donner un produit coloré en vert. Préalablement, un traitement alcalin est réalisé à chaud afin d'éliminer les sucres autres que le saccharose, celui-ci restant stable dans ces conditions (Jones *et al.* 1977). Un aliquot de l'extrait de sucres soluble de 25 à 100 μL (complétée à 100 μL avec de l'eau distillée) est mise en incubation 10 min à 100°C en présence de 100 μL d'une solution de KOH à 30% (m/v). Une fois refroidi, on ajoute 1,5 mL de réactif d'anthrone à 0,2% (m/m) dans H_2SO_4 concentré. Après 20 min d'incubation à 40°C, la lecture de la densité optique se fait à 620 nm. La gamme étalon est réalisée avec une solution de saccharose. Pour chaque extrait, 3 essais sont réalisés. Les résultats sont ensuite exprimés en mg par g de matière sèche.

III.5.4 Dosage des sucres réducteurs

Les sucres réducteurs sont dosés avec un réactif à l'acide 3,5-Dinitrosalicylique (DNS), par une méthode colorimétrique (Miller 1959). C'est une réaction d'oxydoréduction non stœchiométrique qui permet de quantifier les sucres réducteurs. En milieu alcalin et à chaud, l'acide 3,5-dinitrosalicylique jaune est réduit par les oses réducteurs en acide 3-amino 5-nitrosalicylique rouge orangé.

Le réactif au DNS est une solution d'acide 3,5-Dinitrosalicylique 40 mM, de NaOH 400 mM et de tartrate double de K-Na 1 M. Cette solution est préparée en solubilisant séparément le DNS et le NaOH. Le tartrate de K-Na est ensuite ajouté au mélange qui est chauffé à 50°C pour en faciliter la solubilisation. Le dosage est réalisé à partir d'une prise d'essai de 200 μL de l'extrait de sucres solubles, complétée à 1 mL avec de l'eau distillée. Immédiatement après l'ajout de 500 μL du réactif au DNS, une incubation de 5 min à 100°C est réalisée. Après 5 min de centrifugation à 5000 g, la lecture de la densité optique se fait à 530 nm sur une aliquote du surnageant diluée à l'eau distillée. La gamme étalon est réalisée dans les mêmes conditions de dilution avec une solution de glucose. Les résultats sont exprimés en mmol par g de matière sèche.

III.5.5 Teneur en carbone organique total (COT)

Les analyses sont réalisées avec un analyseur de carbone (COT mètre, Shimadzu) à partir de 15 à 20 mg de poudre sèche qui est carbonisée à 200°C (méthode SSM-TC). L'appareil donne directement la masse de carbone organique total exprimée en pourcentage de la masse sèche de l'échantillon. Pour chaque échantillon deux répétitions sont effectuées.

III.5.6 Extraction et dosage des nitrates dans les racines

L'extraction des nitrates est réalisée à partir de 50 à 200 mg de poudre fine végétale mis en incubation dans 5 mL d'eau déminéralisée, pendant 1 heure à 45°C. Le surnageant est obtenu après une centrifugation de 15 min à 2500 g (Thomas et Hilker 2000). Les nitrates sont

ensuite dosés selon la méthode utilisée pour le dosage de l'azote minéral des sols, par spectrophotométrie, avec un analyseur automatisé de type Skalar.

III.5.7 Extraction et dosage des acides aminés

L'extraction se fait sur 20 mg de matière sèche en poudre, en deux incubations successives de 30 min, avec deux fois 750 µL d'éthanol à 70%. Les surnageants sont récupérés après 15 min de centrifugation à 10000 g. Les surnageants des deux incubations successives sont réunis. Les acides aminés sont dosés à partir d'un réactif de ninhydrine, selon la méthode de Moore et Stein (1954). L'absorbance du composé bleu violet formé est mesurée au spectrophotomètre, à 570 nm. La gamme étalon est réalisée avec une solution de leucine. Les résultats sont exprimés en µmol par g de matière sèche.

III.5.8 Extraction et dosage des chlorophylles

Les teneurs en chlorophylles a et b sont évaluées selon la méthode de Lichtenthaler (1987). L'extraction se fait à partir de 10 mg de poudre sèche dans 1,5 mL d'acétone à 80%. Après agitation, les échantillons sont centrifugés à 14000 g pendant 5 min. Les teneurs en chlorophylles a et b sont calculées à partir de la lecture des absorbances à 663 nm (A_{663}) et à 642 nm (A_{642}) contre un blanc contenant uniquement de l'acétone. Les concentrations en pigment sont données par les équations suivantes :

- $\text{Chl a } (\mu\text{g/mL}) = (12,58 \times A_{663}) - (2,93 \times A_{642})$
- $\text{Chl b } (\mu\text{g/mL}) = (21,14 \times A_{642}) - (5,09 \times A_{663})$

Les résultats sont ensuite exprimés en mg de pigment par g de matière sèche.

III.5.9 Extraction et dosage de l'azote soluble, insoluble et total (Kjeldahl)

L'azote insoluble et l'azote total sont dosés suivant le principe de la méthode de Kjeldahl, dont est déduite la teneur en azote soluble. Les composés azotés des échantillons secs en poudre (50 mg) sont minéralisés à l'aide d'acide sulfurique concentré, contenant une concentration élevée de potassium (ce qui permet d'élever le point d'ébullition du mélange) et en présence de sélénium (catalyseur), pour former du sulfate d'ammonium. L'azote est ensuite libéré sous forme d'ammoniac, par l'ajout de soude concentrée, puis distillé dans une solution d'acide borique indicateur. Un dosage par titration permet de déterminer la quantité d'ammoniac. Le tampon borique vert, en excès (dosage en retour), se colore en rose en présence d'acide sulfurique. Les résultats sont exprimés en mg d'azote par g de matière sèche.

III.6 Analyses enzymatiques

III.6.1 Mesure *in vivo* de l'activité enzymatique de la nitrate réductase (NR)

L'activité nitrate réductase est mesurée *in vivo* selon les protocoles de Thomas et Hilker (2000) et Schmull et Thomas (2000), avec (NR_{KNO₃}) et sans (NR_{H₂O}) ajout de NO₃⁻ exogène dans le milieu d'incubation. L'activité NR_{KNO₃} des tissus correspond à la capacité enzymatique de réduction de NO₃⁻ sans limitation en substrat NO₃⁻, alors que la mesure de l'activité NR_{H₂O} sans apport exogène de NO₃⁻ se rapproche de l'activité enzymatique NR *in situ* (Andrews 1986).

Pour chaque plant, les mesures d'activité NR_{H₂O} et NR_{KNO₃} sont réalisées simultanément sur les racines et sur les feuilles de chaque unité de croissance. Chaque essai nécessite 100 mg de feuilles, prélevés à l'emporte pièce, et 50 mg de racines fines. Avant d'être découpées en morceaux de 2 mm, les racines sont délicatement lavées à l'eau, puis nettoyées avec une solution à 3% d'H₂O₂ afin d'éliminer les microorganismes de la surface des racines (Müller *et al.* 1994), puis rincées à l'eau distillée. Les tissus prélevés sont rapidement plongés dans des tubes contenant 5 mL de solution tampon de KH₂PO₄ / K₂HPO₄ 0,4 M à pH 7,5 contenant 1,5% de 1-propanol ; placés dans la glace et à l'obscurité afin d'éviter une réduction prématurée des nitrates avant l'incubation. Après ajout de 0,5 mL d'H₂O_d ou de 0,5 mL de KNO₃ 0,4 M (respectivement NR_{H₂O} et NR_{KNO₃}), une infiltration sous vide de quelques minutes est appliquée. La pénétration du nitrate du milieu d'incubation dans les tissus foliaires et l'efflux de nitrite produit par ces tissus sont assurés par la combinaison de l'infiltration sous vide et du 1-propanol. Les échantillons sont placés 90 min au bain marie à 30°C et à l'obscurité. Pendant ce temps la production de NO₂⁻ est linéaire (Thomas et Hilker 2000) et vérification personnelle). Une prise d'essai de 0,5 mL du milieu est prélevée après 30 min d'incubation, puis une autre après 90 min. A chaque prise d'essai on ajoute immédiatement 0,5 mL d'une solution de sulfanilamide à 1% dans l'HCl 3 M, puis 0,5 mL d'une solution aqueuse de N-naphtyléthylène diamine dihydrochloride à 0,1%. Après 10 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, la densité optique du diazo-complexe rose formé à partir des nitrites est mesurée à 540 nm (gamme étalon réalisée à partir de NaNO₂⁻).

La production de NO₂⁻ par heure est calculée pour chaque essai à partir de la différence des teneurs mesurées à 30 et 90 min. Les résultats sont exprimés en nmol NO₂⁻.g⁻¹ de matière fraîche (MF).h⁻¹. L'activité NR racinaire et foliaire globale par plant est estimée sur la masse fraîche totale des racines latérales et sur la masse fraîche totale des feuilles de chaque semis.

III.6.2 Extraction protéique et mesure in vitro de l'activité enzymatique de la glutamine synthétase (GS)

Ces dosages enzymatiques sont réalisés sur des tissus foliaires et racinaires conservés à - 80°C. Les échantillons racinaires sont constitués des racines latérales et également du pivot lorsque la quantité de matériel était trop faible.

Les extractions et les dosages de l'activité GS sont inspirées des travaux de Bedell *et al.* (1995). Les extractions sont réalisées au froid, en présence de glace. Les tissus végétaux sont broyés au mortier à l'aide d'azote liquide et de sable de Fontainebleau, en présence de PVP et de PVPP respectivement à 25 et 50% (m/m), avec un tampon d'extraction à pH 7,6 HEPES-KOH 50 mM, EDTA 2 mM, MgSO₄ 5 mM, mercaptoéthanol 14 mM et PMSF 0,5 mM. Ce tampon d'extraction est utilisé le plus souvent à raison de 10 mL par g de matière fraîche. Les extraits sont centrifugés 30 min à 4°C et à 30000 g. Ensuite 2,5 mL de surnageant sont dessalés sur colonnes Sephadex G-25 M (Amersham Pharmacia PD-10) avec 3,5 mL de tampon d'élution HEPES-KOH (pH 7,6) 50 mM, EDTA 1 mM, MgSO₄ 5 mM, mercaptoéthanol 7 mM.

Cette enzyme possède la propriété de catalyser la formation du γ -glutamylhydroxamate (γ -GH) lorsque l'ion ammonium est remplacé par l'hydroxylamine (NH₂OH) avec le glutamate comme substrat et en présence d'ATP (réaction dite biosynthétique par opposition à la réaction transférasique réalisée en présence d'ADP avec la glutamine comme substrat). Le γ -GH produit forme un complexe de coloration brune en présence de FeCl₃.

Les mesures d'activité enzymatique de la GS sont réalisés en suivant la méthode décrite par Bedell (1996). Le milieu réactionnel est composé de tampon Tris-HCl 50 mM (pH 7,6), EDTA 4 mM, MgSO₄ 20 mM et NH₂OH 30 mM, avec 100 à 300 μ L d'extrait enzymatique, et avec ajout au dernier moment de 100 μ L d'ATP 5 mM et 100 μ L de glutamate 40 mM (préparées séparément en solution tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,6), pour un volume final de 1 mL (volume complété par du tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,6). Un témoin est réalisé en parallèle de chaque essai par omission de l'ATP et du glutamate. La réaction déclenchée par l'ajout du substrat se déroule à 30°C pendant 30 min et est stoppée par l'addition de 1 mL d'une solution de FeCl₃ 0,37 M, acide trichloroacétique 0,2 M dans HCl 0,67 M. Après agitation la coloration se déroule pendant 20 min à température ambiante, puis le milieu réactionnel est clarifié par 5 min de centrifugation à 2000 g. La densité optique est lue à 540 nm et la gamme étalon est réalisée avec une solution de γ -GH 10 mM préparée dans du tampon Tris-HCl 50 mM (pH 7,6).

Les résultats sont exprimés en nkatal (nmoles de produit formées par seconde) de γ -GH, par mg de protéines (activité spécifique).

III.6.3 Extraction protéique et mesure in vitro de l'activité des amylases des cotylédons

Le protocole d'extraction et de dosage des activités amylasiques est adapté des travaux de Witt et Sauter (1996), de Guglielminetti *et al.* (1995b) et de Kato-Noguchi et Macías (2005). Cette activité enzymatique est évaluée en dosant la quantité de sucres réducteurs libérés après une incubation en présence d'amidon soluble.

Les extractions sont réalisées à froid, en présence de glace. Les cotylédons sont broyés au mortier à l'aide d'azote liquide et de sable de Fontainebleau, en présence de PVP et de PVPP respectivement à 25 et 50% (m/m), avec un tampon d'extraction à pH 7,5 d'HEPES-KOH 100 mM, EDTA 1 mM, MgCl₂ 5 mM et DTT 5 mM. Ce tampon d'extraction est utilisé le plus souvent à raison de 10 mL par g de matière fraîche. Les extraits sont centrifugés 30 min à 30000 g et à 4°C puis l'extrait brut est récupéré.

Le dosage de l'activité totale des amylases se fait à partir de 50 µL d'extrait brut. Le dosage de l'activité α -amylase (EC 3.2.1.1.) est réalisé à partir d'une aliquote de l'extrait brut chauffé à 75°C pendant 15 min en présence de CaCl₂ 3 mM (concentration finale), afin d'inactiver les enzymes β -amylase, *debranching enzyme* et α -glucosidase (Sun et Henson 1991). Les procédures de mesure de l'activité totale des amylases et de l'activité α -amylase sont ensuite similaires. La prise d'essai de l'extrait est complétée à 700 µL avec une solution tampon d'acétate de Na 100 mM, pH 5,5 et CaCl₂ 10 mM. La réaction est initiée par l'ajout de 500 µL d'une solution d'amidon soluble de pomme de terre à 2% (m/v) préchauffée à 35°C. Après 15 min d'incubation à 35°C la réaction est stoppée par l'ajout de 500 µL de réactif au DNS qui est immédiatement suivi par 5 min d'incubation à 100°C. Après 5 min de centrifugation à 5000 g, la lecture de la densité optique se fait à 530 nm sur une aliquote du surnageant dilué à l'eau distillée. La composition du réactif au DNS est décrite précédemment dans le paragraphe sur le dosage des sucres réducteurs (§ III.5.4, p 56).

Pour chaque échantillon 3 essais de chaque dosage sont réalisés. Les blancs, également réalisés en trois répétitions, sont obtenus par ajout du réactif au DNS avant l'ajout du substrat (Guglielminetti *et al.* 1995b). Ces activités enzymatiques sont calculées en µmol de sucres libérés par min et par mg de protéines. Une unité (U) représente la quantité d'enzyme libérant 1 µmol de sucre par min (U.mg⁻¹_{Prot}).

III.6.4 Dosage des protéines dans les extraits enzymatiques

Les teneurs en protéines solubles des extraits enzymatiques sont déterminées par la méthode de Bradford (1976). La prise d'essai de l'extrait enzymatique varie de 5 à 30 µL, complétée à 1 mL avec du tampon d'extraction (dilution en fonction de la concentration de l'extrait) à laquelle est ajouté 1 mL de réactif de Bradford (Sigma). Trois essais sont réalisés pour chaque extrait, contre un témoin contenant uniquement du tampon d'extraction. Après

stabilisation de la réaction (environ 10 min), la densité optique est mesurée à 595 nm. La gamme étalon est réalisée à partir d'une solution de BSA.

III.7 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel StatView version 2 (1992-98, SAS Institute Inc.). Les masses fraîches initiales des glands, avant germination, ont été analysées avec le test *t* de Student. Les mesures réalisées au cours des différentes expériences ont fourni des résultats hétérogènes, les données ne suivent pas une loi normale et ne présentent pas d'égalité des variances. Ils ont été analysés statistiquement par des tests non paramétriques. Le test de Kruskal-Wallis est utilisé pour les comparaisons multiples entre expériences, des mesures des paramètres de croissance (pour chaque modalité espèces / récolte / traitement). Certains paramètres de croissance (surface foliaire, longueur de la tige et du pivot) n'ont pas présenté de différences significatives entre expériences au seuil de confiance $p < 0,01$. Dans ce cas, les mesures réalisées au cours des différentes expériences sont rassemblées. Le test de la somme des rangs (test *U*) de Mann-Whitney est utilisé pour les comparaisons entre traitements (deux à deux), pour chaque espèce et à chaque récolte, et pour les comparaisons entre les deux espèces, pour chaque traitement et à chaque récolte. Les différences sont considérées significatives au seuil de confiance $p < 0,05$. Dans certains cas, précisés dans les légendes des figures et des tableaux, les différences significatives présentent un seuil de confiance $p < 0,01$.

Tableau MM-2. Paramètres mesurés associés aux différentes expériences réalisées et figures et tableaux correspondants.

	expériences	figures et tableaux
Partie I Croissance et développement		
% développement des étages foliaires	E-1, E-3, E-4 et E-5	Tableau 1
longueur de la tige, du pivot et surface foliaire	E-1, E-3, E-4 et E-5	Tableau 2a Tableau 2b
masses sèches totales et des différents organes et RGR	E-1 E-4	Tableau 3a Tableau 3b
nombre de racines latérales en fonction de la profondeur	E-1 E-3	Figure 2a Figure 2b
longueur des racines latérales en fonction de la profondeur	E-1 E-3	Figure 3a Figure 3b
variations du potentiel hydrique	E-1 E-5 E-4	Figure 7a Figure 7b Figure 7c
Partie II Gestion des réserves glucidiques		
teneurs en amidon par plant	E-1	Figure 8a
par organes	E-1	Figure 8b
et dans le pivot en fonction de la profondeur	E-1	Figure 9
concentrations foliaires et racinaires en sucres réducteurs	E-4	Figure 10
concentrations foliaires en sucres solubles totaux et en saccharose	E-1	Figure 11
masses sèches cotylédonaire	E-1, E-3, E-4 et E-5	Tableau 4
teneurs cotylédonaire en amidon	E-1 E-4	Figure 12a Figure 12b
taux de mobilisation des réserves cotylédonaire (RMR)		
en masses sèches et en amidon	E-1 et E-4	Tableau 5a Tableau 5b
concentrations cotylédonaire en sucres réducteurs et en saccharose	E-4	Figure 13
teneurs en amidon, en sucres réducteurs et en saccharose des cotylédons dont la photosynthèse est empêchée	E-2 E-2	Figure 14 Figure 15
activités amylasiques des cotylédons	E-4	Figure 16
Carbone Organique Total (COT)	E-1	Tableau 6
Partie III Nutrition azotée		
teneurs en azote (NO_3^- , NH_3 et NO_2^-) du substrat de culture	E-5 E-4	Tableau 7a Tableau 7b
concentrations racinaires en NO_3^-	E-4	Figure 17
activités de la nitratre réductase racinaire et de la nitratre réductase foliaire	E-4	Tableau 8a Tableau 8b
activités de la glutamine synthétase foliaire et racinaire	E-5	Figure 18
concentrations en acides aminés des différents organes	E-4	Figure 19a, b
concentrations foliaires et racinaires en protéines	E-5	Figure 20
teneurs en chlorophylles	E-1	Figure 21
azote soluble et insoluble des différents organes	E-4	Figure 22

IV. Résultats - I -

(I) Développement, croissance aérienne et architecture racinaire des jeunes semis

IV.1 Variations du potentiel d'oxydoréduction

Des mesures du potentiel d'oxydoréduction (Eh) dans le substrat de culture ont été effectuées régulièrement pour chaque culture. La Figure 1 présente l'évolution d'Eh au cours du temps lors d'une expérience représentative. On observe en situation témoin (T) des valeurs d'Eh aux alentours de 400 mV qui restent stables tout au long de la culture, ce qui correspond à un sol correctement aéré. En situation d'excès d'eau, on observe dès le début de l'ennoyage (E) un Eh de 300 mV qui diminue progressivement pour atteindre 0 mV en 60 jours et -300 mV 40 jours plus tard. Par la suite, Eh reste très faible avec des valeurs comprises entre -300 et -400 mV. Selon les expériences, Eh chute plus ou moins rapidement en conditions d'ennoyage. Le repiquage des semis a lieu lorsqu'Eh est aux alentours de 0 mV, ce qui correspond à l'absence d'oxygène dans le substrat de culture. Après drainage (les pots sont retirés du bac d'eau : traitement ED), on observe une augmentation très rapide de Eh qui correspond à une ré-oxygénation du substrat. Dans un premier temps, la ré-oxygénation se fait avec une grande hétérogénéité comme en témoignent les écart-types importants. Cependant, après seulement une dizaine de jours, les pots drainés présentent des teneurs en O₂ normales avec des valeurs d'Eh homogènes et similaires à celles des témoins.

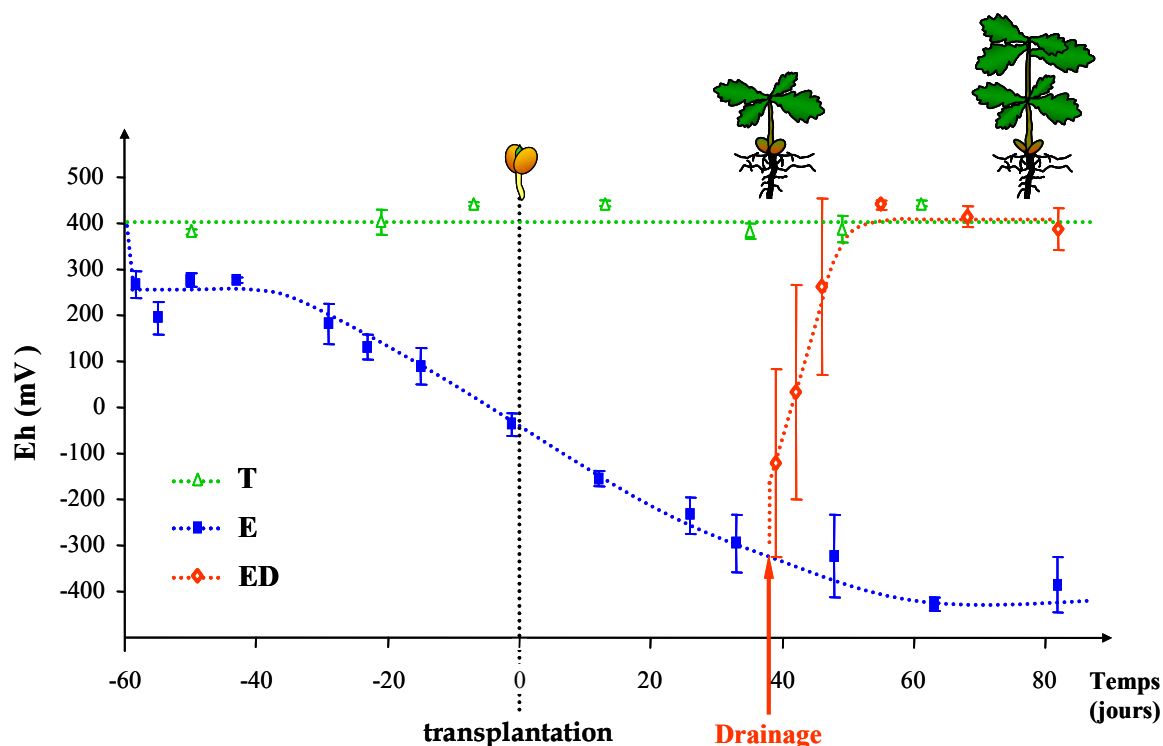


Figure 1. Evolution du potentiel d'oxydoréduction (Eh) en fonction du temps (jours) dans le substrat de culture des semis témoins (Δ T), ennoyés (\blacksquare E) et des semis ennoyés qui subissent un drainage (\blacklozenge ED). Les mesures sont réalisées à 7-8 cm de fond dès le début de la préparation des pots de culture. Sont indiqués le moment de la transplantation des jeunes semis (considéré comme le temps 0 de culture) et le moment du drainage des semis ennoyés. Les stades de développement des semis en fonction du temps sont représentés schématiquement au dessus du graphique (stades transplantation, repos I et repos II). Moyennes \pm erreurs standard, $n = 5$ à 8 pots.

IV.2 Croissance et développement des semis

Tout d'abord, il convient de noter que l'ennoyage entraîne un allongement de la durée de développement des différentes phases de croissance des semis des deux espèces. La durée de la phase de repos apparent du premier étage foliaire des semis ennoyés s'allonge de deux à cinq jours par rapport aux témoins. Ensuite, le développement de la deuxième vague de croissance est particulièrement ralenti. Les semis ennoyés rentrent en repos apparent du deuxième étage dix à quinze jours après les témoins. Ces résultats n'ont pas fait l'objet d'un suivi précis et ne sont donc pas illustrés. Néanmoins, l'âge des semis aux différentes récoltes (Tableau MM-1) rend compte de ces données.

IV.2.1 Taux de développement des étages foliaires

Les semis ont été repiqués lorsque leur pivot mesurait 4 à 6 cm et leur tige quelques mm (la germination des glands était initiée en conditions optimales). L'hétéroblastie des semis n'a pas fait l'objet d'étude particulière, mais celle-ci ne semble pas perturbée par le stress. Le développement du premier étage est très peu affecté par le stress (Tableau 1), mais le pourcentage des semis témoins de *Q. petraea* qui développent un premier étage est légèrement plus faible que celui des semis témoins de *Q. robur*.

Tableau 1. Pourcentage des semis de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* des provenances "Montbéliard" et "ONF" qui ont développé un premier étage après la transplantation (1^{er} étage) et qui ont développé un deuxième étage après la mise en place du premier étage (2^{ème} étage), en conditions témoin (T), d'ennoyage (E) et d'ennoyage suivi d'un drainage (ED). Seuls les semis qui ont développé le premier étage sont pris en compte pour calculer le pourcentage de développement du deuxième étage. Le drainage des semis ennoyés ne concerne que les semis d'origine "ONF" et il est réalisé après le développement du premier étage. Ces pourcentages sont déterminés sur l'ensemble des expériences réalisées dans des conditions similaires depuis 2003 (Gérard 2003). Entre parenthèses sont indiqués les effectifs pris en compte pour le calcul des pourcentages de développement.

espèce	provenance	1 ^{er} étage		2 ^{ème} étage	
		traitement	développement	traitement	développement
<i>Quercus robur</i>	Montbéliard	T	99% (n=66)	T	100 % (n=30)
		E	96% (n=67)	E	78 % (n=19)
	ONF	T	100% (n=79)	T	94 % (n=32)
		E	100% (n=117)	E	33 % (n=18)
				ED	94 % (n=18)
<i>Quercus petraea</i>	Montbéliard	T	93% (n=15)	T	100 % (n=9)
		E	100% (n=15)	E	0 % (n=10)
	ONF	T	100% (n=79)	T	94 % (n=32)
		E	88% (n=129)	E	21 % (n=24)
				ED	88 % (n=17)

En conditions d'ennoyage (E), après la mise en place du premier étage, le développement du deuxième étage est plus fortement inhibé. Cependant, les résultats diffèrent selon les

provenances des glands. Aucun des semis de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" n'ont développé un deuxième étage en conditions d'ennoyage (E), alors que 78% des semis de *Q. robur* l'ont fait. Les semis d'origine "ONF" montrent des résultats moins contrastés entre les deux espèces (Tableau 1). En conditions d'ennoyage (E), 21% des semis de *Q. petraea* sont parvenus à mettre en place un deuxième étage et seulement 33% des semis de *Q. robur* y sont parvenus.

Le drainage des semis ennoyés (traitement ED) a été effectué après le développement du premier étage, pendant la phase de repos apparent du premier étage foliaire. Suite à ce drainage, pour les deux espèces, le pourcentage de semis qui développe un deuxième étage est similaire à celui des semis témoins (T). Ainsi l'inhibition de la croissance aérienne a été levée (Tableau 1).

IV.2.2 Surface foliaire

La surface foliaire des semis (Tableau 2) est globalement semblable pour les deux espèces de chêne, à l'exception de celle des semis témoins d'origine "ONF" à la récolte R1 et de celle des semis drainés (Tableau 2b). Dans l'ensemble, les semis ennoyés des deux espèces présentent une réduction significative de la surface foliaire, de 50 à 80% par rapport à celles des semis témoins. Le drainage des semis ennoyés de *Q. robur* (traitement ED) entraîne après le développement du deuxième étage (récolte R2) une augmentation significative de la surface foliaire par rapport à celle des semis maintenus ennoyés (E), mais cette augmentation reste significativement inférieure à celle des témoins (Tableau 2b). Les semis ennoyés puis drainés (ED) de *Q. petraea* montrent une augmentation de la surface foliaire qui n'est pas significative par rapport aux semis maintenus ennoyés (E). La surface foliaire des semis ennoyés puis drainés de *Q. robur* est significativement plus importante que celle des semis ennoyés puis drainés de *Q. petraea*.

IV.2.3 Croissance des tiges

La croissance en longueur des tiges des jeunes semis témoins (T) et ennoyés (E) de *Q. robur* est significativement plus élevée que celle des semis de *Q. petraea* (Tableau 2a et b). L'ennoyage entraîne une légère réduction de la croissance en longueur de la tige, qui est significative chez *Q. robur* dès le développement du premier étage (récolte R1, Tableau 2a et dès la récolte J15, Tableau 2b) alors que chez *Q. petraea* la longueur de la tige n'est significativement réduite qu'après le développement du deuxième étage (récolte R2). Les semis drainés (ED) des deux espèces montrent après le développement du deuxième étage (récolte R2) une croissance en longueur de la tige significativement plus forte que celle observée pour les semis maintenus ennoyés (E). Cependant la longueur de tige des semis drainés (ED) de *Q. petraea* reste significativement inférieure à celle des semis témoins, contrairement à ce qui est observé pour les semis drainés de *Q. robur* (récolte R2, Tableau 2b).

Tableau 2. Variation de la surface foliaire (cm²), de la longueur de la tige et de la racine pivot (cm) des semis témoins (T) et ennoyés (E) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" (a) aux récoltes R1, Tg2 et R2, et des semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" (b) aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2 ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire. Les valeurs présentées pour les semis d'origine "ONF" (b) correspondent aux moyennes des résultats obtenus au cours de plusieurs expériences, après avoir vérifié pour chaque combinaison espèce/traitement/récolte qu'il n'y avait pas de différences significatives entre les différentes expériences (test de Kruskal-Wallis).

a. Semis d'origine "Montbéliard"

Récoltes	<i>Quercus robur</i>		<i>Quercus petraea</i>	
	T	E	T	E
surface foliaire (cm ²)				
R1	137 ± 23	80 ± 5 *	117 ± 18	66 ± 18 *
Tg2	186 ± 76	73 ± 29 *	173 ± 17	nd
R2	220 ± 34	96 ± 20 *	165 ± 66	59 ± 20 *
longueur tige (cm)				
R1	17,0 ± 1,3	14,8 ± 1,2 *	15,5 ± 4,2	13,6 ± 2,4
Tg2	22,7 ± 4,5	15,6 ± 4,6	18,7 ± 3,1	nd
R2	26,1 ± 3,0	19,0 ± 4,0 *	14,1 ± 3,5 ε	6,7 ± 1,6 *ε
longueur pivot (cm)				
R1	22,4 ± 6,6	8,3 ± 0,5 *	26,1 ± 3,6	6,4 ± 1,3 *ε
Tg2	28,8 ± 5,2	9,2 ± 0,8 *	28,0 ± 6,2	nd
R2	27,8 ± 8,2	8,9 ± 0,7 *	31,5 ± 5,1	6,7 ± 1,2 *ε

Pour une récolte donnée, les symboles

nd : non déterminé

* indique une différence significative entre T et E d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces pour un traitement donné.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ excepté les semis ennoyés de *Q. petraea* où $n=4$ à la récolte R2.

Moyennes ± erreurs standard.

Il est intéressant de noter que, si l'on compare les semis ennoyés des deux espèces à leurs témoins respectifs, la réduction de croissance est parfois plus élevée chez *Q. robur*. Ceci s'observe chez les semis d'origine "ONF" (Tableau 2b), mais pas chez ceux d'origine "Montbéliard" (Tableau 2a).

IV.2.4 Elongation racinaire

Après 15 jours de croissance (récolte J15) le pivot des semis témoins (T) a déjà atteint une longueur d'environ 20 cm. La racine pivot atteint donc le fond des pots en 15 à 20 jours. Ensuite, ceci correspond vraisemblablement à une contrainte à l'origine de la faible élongation du pivot des semis témoins.

L'ennoyage entraîne une réduction drastique et significative de l'élongation du pivot qui stoppe sa croissance à environ 8 cm de fond quelles que soient l'espèce et l'origine des glands (Tableau 2a et b). En conditions d'ennoyage (E), la longueur de la racine pivot est relativement constante au cours du temps. Pour les semis d'origine "Montbéliard", celle des

semis ennoyés de *Q. petraea* est significativement plus petite que celle des semis ennoyés de *Q. robur* (Tableau 2a). Pour les semis d'origine "ONF", la longueur de la racine pivot est semblable pour les deux espèces (Tableau 2b).

Après le drainage des semis ennoyés (traitement ED), les pivots montrent une forte reprise de la croissance (Tableau 2b, Figure 5 et Figure 6). Après seulement 10 jours de drainage (récolte R1 D+10), la longueur du pivot des semis des deux espèces est déjà significativement plus forte que celle des semis maintenus ennoyés (E). Après le développement du deuxième étage (récolte R2), la longueur du pivot des semis drainés (ED) des deux espèces est similaire à celle des témoins.

Tableau 2.

b. Semis d'origine "ONF"

Récoltes	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
	T	E	ED	T	E	ED
surface foliaire (cm ²)						
R1	115 ± 33	61 ± 34 *		81 ± 29 ε	59 ± 16	
R1 D+10	146 ± 39	56 ± 31 *	89 ± 45 ×	110 ± 58	50 ± 22 *	52 ± 23 ×ε
R2	495 ± 114	82 ± 34 *	224 ± 107 ×θ	305 ± 121	69 ± 30 *	117 ± 82 ×ε
longueur tige (cm)						
J15	10,2 ± 3,0	5,4 ± 3,4 *		7,7 ± 3,0	6,1 ± 3,3	
R1	16,2 ± 3,4	11,7 ± 3,4 *		10,3 ± 3,8 ε	8,6 ± 1,9 ε	
R1 D+10	20,8 ± 8,5	12,1 ± 5,2 *	15,1 ± 3,5	11,4 ± 6,1 ε	9,2 ± 3,3	9,4 ± 3,3 ε
R2	32,7 ± 9,5	14,6 ± 4,4 *	26,5 ± 10,3 θ	22,9 ± 7,0 ε	8,5 ± 3,6 *ε	13,7 ± 5,3 ×θε
longueur pivot (cm)						
J15	22,6 ± 6,4	6,9 ± 1,6 *		20,0 ± 3,2	6,7 ± 1,7 *	
R1	25,6 ± 9,2	7,9 ± 1,8 *		25,0 ± 9,6	6,5 ± 1,5 *	
R1 D+10	24,3 ± 8,7	7,7 ± 1,6 *	10,4 ± 2,8 ×θ	27,9 ± 10,5	6,6 ± 2,0 *	10,1 ± 3,9 ×θ
R2	27,7 ± 11,9	7,5 ± 2,1 *	25,6 ± 5,2 θ	25,6 ± 12,3	8,8 ± 2,5 *	21,9 ± 7,5 θ

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les semis T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les semis T et ED d'une même espèce,

θ indique une différence significative entre les semis E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

p < 0,01 test U de Mann-Whitney, n = 10 à 20. Moyennes ± erreurs standard.

IV.2.5 Accumulation de biomasse

Les semis témoins (T) des deux espèces présentent globalement des accumulations de biomasses sèches similaires. Les semis témoins d'origine "ONF" (Tableau 3b) présentent des biomasses sèches qui sont dans l'ensemble supérieures à celles des semis témoins d'origine "Montbéliard" (Tableau 3a).

Tableau 3. Variations des masses sèches totales (g) et des différents organes (feuilles, tiges et racines en mg) des semis témoins (T) et ennoyés (E) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" (a) aux récoltes R1, Tg2 et R2, et des semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" (b) aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2 ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire. Les taux de croissance relatifs, *Relative Growth Rate* (RGR), en biomasse sèche ($\text{mg.g}^{-1}.\text{j}^{-1}$) des semis entiers et de leurs différents organes (feuilles, tiges et racines) sont indiqués. Ces RGRs sont calculés pour la période de croissance des semis de la récolte R1 à R2.

a. Semis d'origine "Montbéliard"

Récoltes	<i>Quercus robur</i>		<i>Quercus petraea</i>	
	T	E	T	E
masse totale des semis (g)				
R1	1,80 ± 0,21	1,06 ± 0,15 *	1,62 ± 0,33	0,83 ± 0,24 *
Tg2	3,02 ± 0,5	1,59 ± 0,4 *	3,16 ± 0,7	nd
R2	3,97 ± 0,55	2,04 ± 0,37 *	3,08 ± 1,21	1,25 ± 0,28 * ε
RGR	0,030	0,021	0,016	0,007
masse foliaire (mg)				
R1	717 ± 75	465 ± 24 *	710 ± 130	401 ± 105 *
Tg2	984 ± 218	450 ± 127 *	1099 ± 116	nd
R2	1355 ± 157	651 ± 104 *	1175 ± 438	435 ± 120 *
RGR foliaire	0,024	0,010	0,013	0,001
masse des tiges (mg)				
R1	316 ± 48	299 ± 70	251 ± 60	235 ± 69
Tg2	629 ± 108	487 ± 153	511 ± 142	nd
R2	826 ± 164	663 ± 177	432 ± 185 ε	367 ± 63 ε
RGR des tiges	0,036	0,025	0,014	0,008
masse racinaire (mg)				
R1	766 ± 115	298 ± 63 *	608 ± 156	195 ± 43 * ε
Tg2	1406 ± 238	652 ± 145 *	1544 ± 399	nd
R2	1786 ± 212	730 ± 122 *	1468 ± 481	446 ± 124 *
RGR racinaire	0,032	0,028	0,032	0,014

Pour une récolte donnée, les symboles

nd : non déterminé

* indique une différence significative entre T et E d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces pour un traitement donné.

$p < 0,05$ test *U* de Mann-Whitney, $n = 5$ excepté les semis ennoyés de *Q. petraea* où $n=4$ à la récolte R2.

Moyennes ± erreurs standard.

En condition d'ennoyage (E), la masse sèche totale des semis des deux espèces est significativement réduite mais la masse sèche des tiges n'est pas affectée. Ce sont les masses sèches foliaires et racinaires qui sont particulièrement réduites par l'ennoyage (Tableau 3a et b).

La masse sèche des feuilles des semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* est significativement réduite, dès la récolte R1 (développement du premier étage terminé) pour les semis d'origine "Montbéliard" (Tableau 3a), et à partir de la croissance du deuxième étage pour les semis d'origine "ONF" (Tableau 3b). La masse sèche racinaire des semis ennoyés (E) des deux espèces est fortement et significativement réduite tout au long des expériences. Les semis ennoyés des deux espèces présentent des différences significatives, essentiellement au niveau de la masse des tiges, avec des valeurs plus faibles pour les semis de *Q. petraea* que pour ceux de *Q. robur* (Tableau 3a et b).

Tableau 3.

b. Semis d'origine "ONF"

Récoltes	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
	T	E	ED	T	E	ED
masse totale des semis (g)						
J15	0,32 ± 0,12	0,13 ± 0,03 *		0,32 ± 0,07	0,12 ± 0,07 *	
R1	1,46 ± 0,41	0,94 ± 0,23		1,45 ± 0,32	0,91 ± 0,23 *	
R1 D+10	3,48 ± 0,49	1,25 ± 0,35 *	1,32 ± 0,22 ×	2,51 ± 0,41 ε	0,91 ± 0,26 *	1,12 ± 0,27 ×
R2	5,99 ± 1,23	2,59 ± 0,38 *	5,66 ± 0,76 ø	3,94 ± 1,62	1,85 ± 0,77 *	1,83 ± 1,34 ε
RGR	0,039	0,021	0,037	0,028	0,014	0,014
masse foliaire (mg)						
J15	8 ± 9	4 ± 6		43 ± 26 ε	13 ± 12	
R1	477 ± 225	504 ± 143		546 ± 204	461 ± 108	
R1 D+10	970 ± 97	541 ± 102 *	490 ± 121 ×	950 ± 183	359 ± 137 *	471 ± 97 ×
R2	2621 ± 429	593 ± 113 *	2089 ± 400 ø	1775 ± 768	643 ± 273 *	810 ± 728 ε
RGR foliaire	0,047	0,003	0,030	0,033	0,007	0,011
masse des tiges (mg)						
J15	67 ± 31	52 ± 7		72 ± 13	37 ± 31	
R1	226 ± 64	250 ± 61		183 ± 40	180 ± 27 ε	
R1 D+10	700 ± 152	370 ± 125 *	380 ± 79 ×	394 ± 47 ε	268 ± 64 *	260 ± 71 ×
R2	1232 ± 335	923 ± 191	1527 ± 162 ø	696 ± 354	412 ± 149 ε	389 ± 277 ε
RGR des tiges	0,047	0,027	0,038	0,037	0,016	0,015
masse racinaire (mg)						
J15	249 ± 93	74 ± 17 *		206 ± 53	71 ± 29 *	
R1	755 ± 221	184 ± 30 *		724 ± 124	266 ± 110 *	
R1 D+10	1811 ± 378	335 ± 144 *	448 ± 113 ×	1165 ± 263 ε	280 ± 77 *	391 ± 124 ×
R2	2134 ± 548	1070 ± 198 *	2043 ± 352 ø	1474 ± 540	797 ± 362 *	629 ± 349 ×ε
RGR racinaire	0,029	0,037	0,050	0,020	0,022	0,017

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les semis T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les semis T et ED d'une même espèce,

ø indique une différence significative entre les semis E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

p < 0,05 test U de Mann-Whitney, n = 5. Moyennes ± erreurs standard.

Après le drainage des semis ennoyés (ED), pendant le développement du deuxième étage, on observe une forte reprise de la croissance, en particulier pour les semis de *Q. robur* (Tableau 3b). Après 10 jours de drainage (récolte R1 D+10), les masses sèches des différents organes des semis ennoyés puis drainés (ED) des deux espèces sont encore similaires à celles des semis maintenus ennoyés (E). Ensuite, après le développement du deuxième étage (récolte R2), les masses sèches totales, foliaires, racinaires et des tiges des semis ennoyés puis drainés (ED) de *Q. robur* sont similaires à celles des semis témoins (T), et elles sont alors significativement supérieures à celles des semis maintenus ennoyés (E). En revanche, pour les semis ennoyés puis drainés (ED) de *Q. petraea*, après le développement du deuxième étage (récolte R2), l'augmentation des masses sèches totales, foliaires et des tiges n'est pas significativement différentes de celles des semis maintenus ennoyés (E), et la masse sèche racinaire reste fortement et significativement réduite par rapport à celle des semis témoins (Tableau 3b). Les semis ennoyés puis drainés (ED) de *Q. robur* présentent, à la récolte R2, des biomasses des différents organes et de la masse sèche totale significativement supérieures

à celles des semis ennoyés puis drainés de *Q. petraea*, avec notamment une biomasse racinaire plus de trois fois supérieure.

IV.2.6 Taux de croissance relatif en biomasse, *Relative Growth Rate* (RGR)

Le RGR est calculé à partir des masses sèches obtenues à la récolte R1 (après la mise en place du premier étage) et à la récolte R2 (après la mise en place du deuxième étage). Il s'agit donc du RGR de la croissance du deuxième étage (Tableau 3a et b). Le drainage des semis ennoyés (ED) est réalisé après le développement du premier étage, le RGR de ces semis correspond donc au taux de croissance pendant la période de drainage.

Pour les semis témoins (T) d'origine "Montbéliard", le RGR des semis de *Q. robur* est quasiment deux fois plus élevé que celui des semis de *Q. petraea* (Tableau 3a). Pour les semis témoins d'origine "ONF", l'écart entre les deux espèces est moins prononcé mais les semis de *Q. robur* montrent une croissance plus élevée que celle des semis de *Q. petraea* (Tableau 3b). Dans l'ensemble, les RGRs des semis d'origine "ONF" sont plus élevés que ceux des semis d'origine "Montbéliard", en particulier pour les semis de *Q. petraea* (témoins et ennoyés).

En conditions d'ennoyage (E) les RGRs du plant entier sont fortement réduits. Pour les semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" ils sont respectivement de 69 et 44% de ceux de leurs témoins respectifs (Tableau 3a). Pour les semis ennoyés d'origine "ONF" des deux espèces, ils sont à environ 50% de leurs témoins (Tableau 3b). Les RGRs des parties aériennes (tiges et feuilles) sont les plus affectés par l'ennoyage. Pour les deux espèces et quelle que soit l'origine des glands, les RGRs foliaires sont drastiquement réduits par l'ennoyage. Le RGR des tiges des semis de *Q. robur* est diminué de 30 à 40% et ceux des semis de *Q. petraea* de 40 à 60%. Les RGRs racinaires sont plus contrastés entre les semis des deux origines. Dans le cas des semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard", le RGR racinaire diminue respectivement de 13% et 57% (Tableau 3a). En revanche, les semis ennoyés d'origine "ONF" montrent une forte croissance racinaire pendant le développement du deuxième étage (Tableau 3b). Les RGRs racinaires de ces semis sont plus élevés que ceux de leurs témoins respectifs, en particulier pour les semis de *Q. robur* (127% du témoin).

Après le drainage des semis ennoyés (ED) de *Q. robur*, le RGR du plant entier se rapproche de celui des témoins, notamment grâce à une très forte augmentation du RGR racinaire (172% de celui des semis témoins). Par contre, les semis ennoyés puis drainés (ED) de *Q. petraea* conservent des RGRs du plant entier et des différents organes proches de ceux des semis maintenus ennoyés (Tableau 3b).

IV.2.7 Architecture racinaire

Pour les semis témoins d'origine "Montbéliard", la distribution des racines latérales en nombre (Figure 2a) et en longueur (Figure 3a) est relativement constante tout le long du pivot.

La distribution des racines latérales des semis témoins des deux espèces est similaire, excepté entre 0 et 2 cm de profondeur où l'on observe des différences significatives. Pour cette partie supérieure du pivot, à l'opposé des semis témoins de *Q. robur*, les semis témoins de *Q. petraea* présentent moins de racines latérales (Figure 2a) et une elongation plus faible (Figure 3a).

L'ennoyage perturbe la distribution des racines latérales en modifiant leur nombre et leur elongation différemment selon l'espèce étudiée. Les semis ennoyés de *Q. robur* présentent une distribution des racines latérales similaire aux témoins pour la partie supérieure du pivot (Figure 2a et Figure 3a), entre 0 et 2 cm et entre 0 et 4 cm de profondeur, respectivement après le développement du premier étage (récolte R1) et du deuxième étage (récolte R2). Plus en profondeur, le nombre (Figure 2a) et la longueur (Figure 3a) des racines latérales des semis ennoyés de *Q. robur* sont significativement réduits. A l'opposé, l'initiation racinaire des semis ennoyés de *Q. petraea* est maintenue tout le long du pivot (Figure 2a), mais leur elongation est fortement et significativement réduite y compris pour la partie supérieure du pivot (Figure 3a).

Dans la deuxième expérience, avec les semis d'origine "ONF" (Figure 2b et Figure 3b), les différences entre les deux espèces sont moins marquées. Les semis ennoyés de *Q. petraea* des deux origines présentent une distribution semblable des racines latérales, mais les semis de *Q. robur* d'origine "ONF" présentent une architecture racinaire qui est plus proche de celle des semis de *Q. petraea*. Ainsi, l'elongation des racines latérales des semis de *Q. robur* d'origine "ONF" est fortement réduite par l'ennoyage tout le long du pivot (Figure 3b). Ceci est particulièrement visible à la première récolte (R1), alors que dans le même temps l'initiation racinaire est moins affectée (Figure 2b). Après le développement du deuxième étage (récolte R2), pour la partie supérieure du pivot, l'elongation des racines latérales des semis ennoyés de *Q. robur* d'origine "ONF" devient également similaire à celle des témoins (entre 0 et 2 cm de profondeur, Figure 3b).

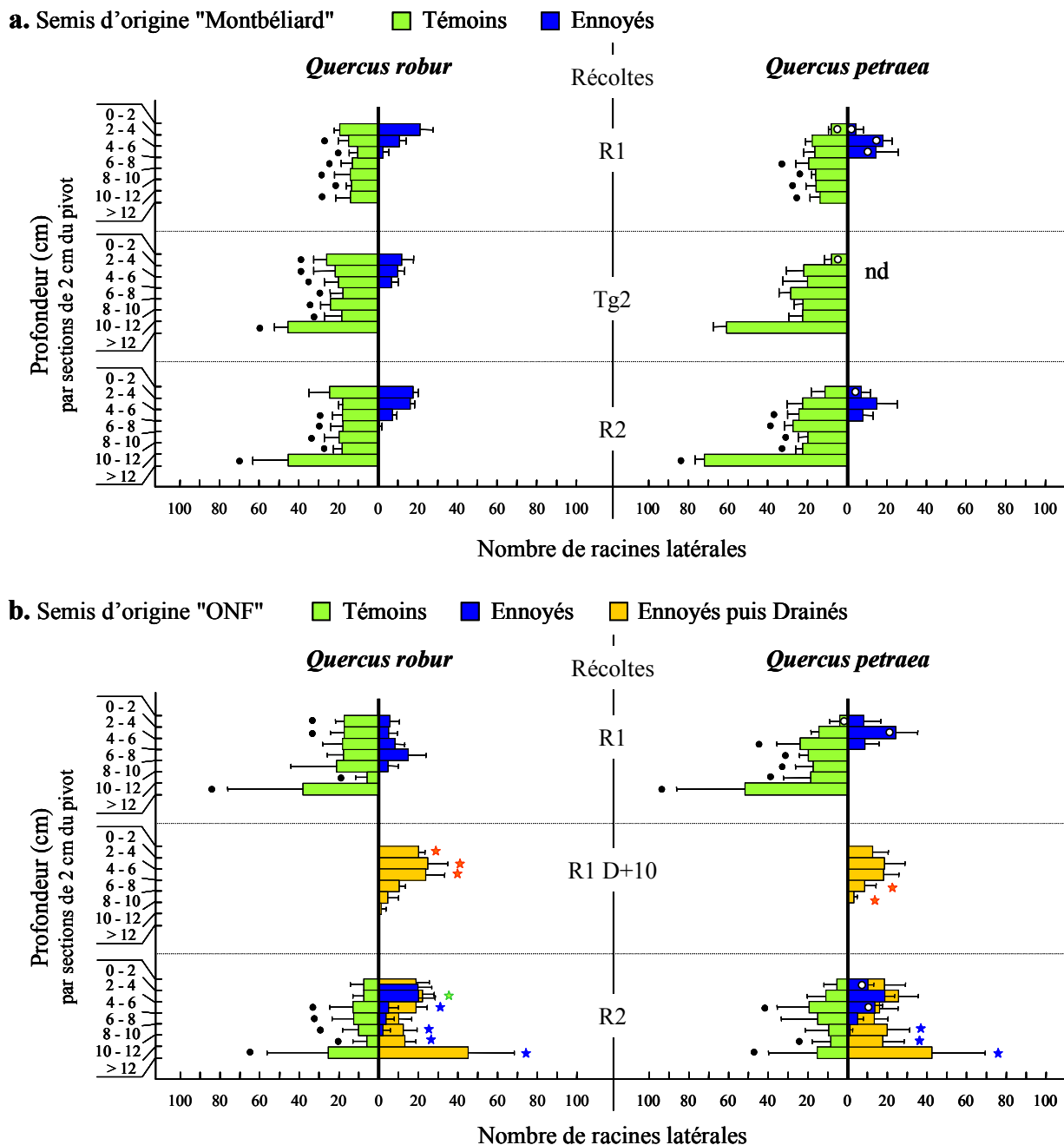


Figure 2. Variations du nombre de racines latérales en fonction de la profondeur, par section de 2 cm de la racine pivot, des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" (a) aux récoltes R1, Tg2 et R2, et des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" (b) aux récoltes R1, R2 et, pour les semis ennoyés qui subissent un drainage, à la récolte R1 D+10 (10 jours après drainage). Le drainage des semis est effectué à la récolte R1. Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2, ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire. Pour une profondeur donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis ennoyés de la récolte R1 et après 10 jours de drainage (récolte R1 D+10).

p < 0,05 test U de Mann-Whitney, n = 5 semis, excepté les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) où n=4 à la récolte R2. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

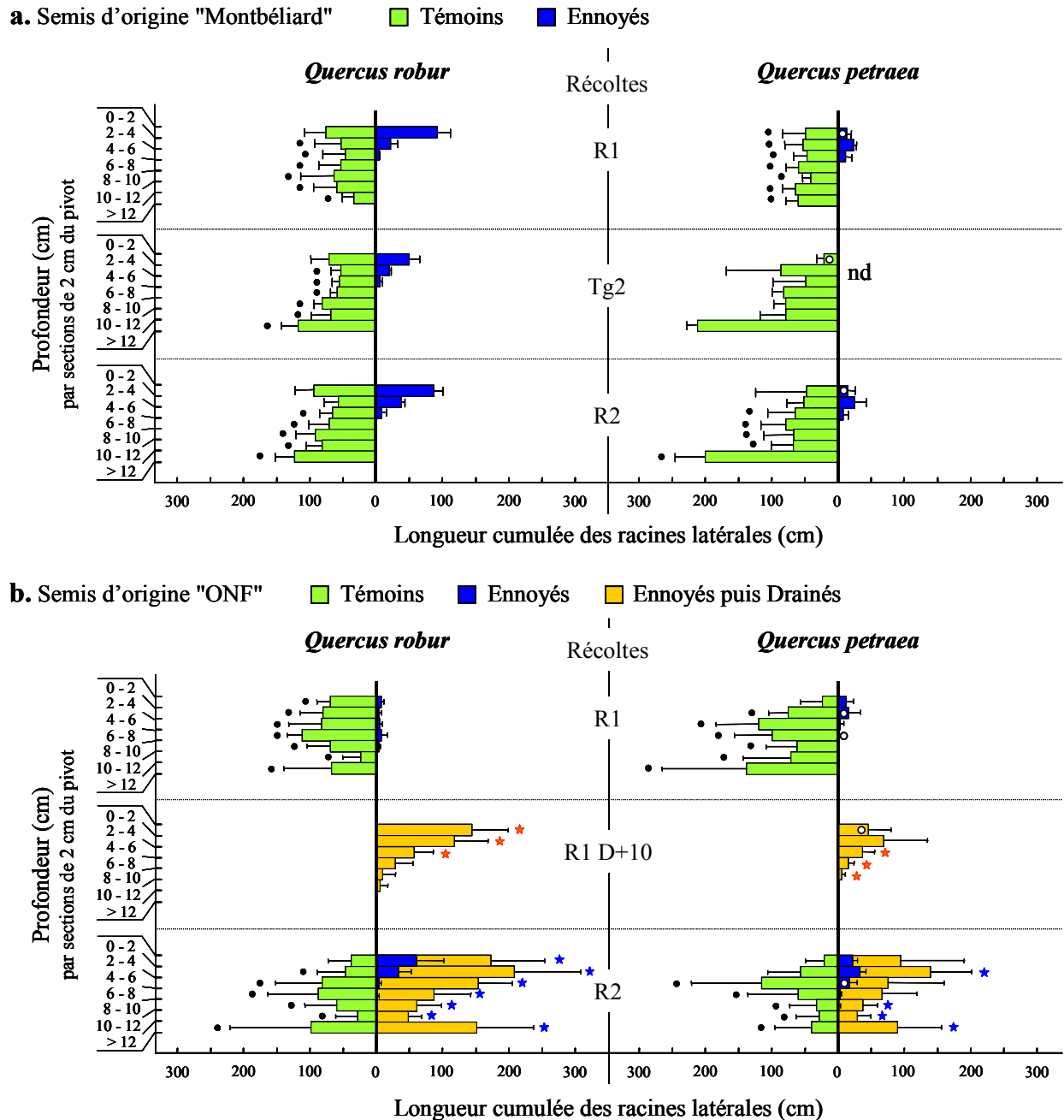


Figure 3. Variations de la longueur cumulée des racines latérales en fonction de la profondeur, par section de 2 cm de la racine pivot, des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" (a) aux récoltes R1, Tg2 et R2, et des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" (b) aux récoltes R1, R2 et, pour les semis ennoyés qui subissent un drainage, à la récolte R1 D+10 (10 jours après drainage). Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1. Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2, ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire.

Pour une profondeur donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
 - indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
 - ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
 - ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés,
 - ★ indique une différence significative entre les semis ennoyés de la récolte R1 et après 10 jours de drainage (récolte R1 D+10).
- $p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis, excepté les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) où $n=4$ à la récolte R2. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Le drainage des semis ennoyés des deux espèces entraîne une forte reprise de la croissance racinaire (Figure 5 et Figure 6). Après seulement 10 jours de drainage (récolte R1 D+10), on observe l'initiation de nouvelles racines (Figure 2b) et notamment une forte élongation racinaire (Figure 3b). Les semis ennoyés puis drainés présentent à la récolte R1 D+10 des valeurs (nombre et longueur des racines latérales) significativement plus élevées que celles des semis ennoyés correspondants à la récolte R1 (Figure 2b et Figure 3b). Cependant, la reprise de la croissance des racines latérales des deux espèces diverge en fonction de la profondeur. En effet, après 10 jours de drainage (récolte R1 D+10), chez les semis ennoyés puis drainés de *Q. robur* elle s'observe plutôt en surface : elle est significative entre 0 et 6 cm de profondeur pour l'initiation et l'élongation (Figure 2b et Figure 3b). Par contre, chez les semis ennoyés puis drainés de *Q. petraea*, elle s'observe plus en profondeur : elle est significative en dessous de 6 cm de profondeur pour l'initiation (Figure 2b) et en dessous de 4 cm de profondeur pour l'élongation (Figure 3b). Cette reprise de la croissance des racines latérales (à la récolte R1 D+10), est plus forte pour les semis drainés de *Q. robur* que pour ceux de *Q. petraea*, en particulier l'élongation (Figure 3b). Ensuite, après le développement du deuxième étage (récolte R2), les semis ennoyés puis drainés des deux espèces présentent une distribution des racines latérales proche de celle des témoins (Figure 2b et Figure 3b). A la récolte R2, la longueur des racines latérales des semis ennoyés puis drainés des deux espèces est particulièrement élevée par rapport à celle des semis témoins, mais sans différence significative.

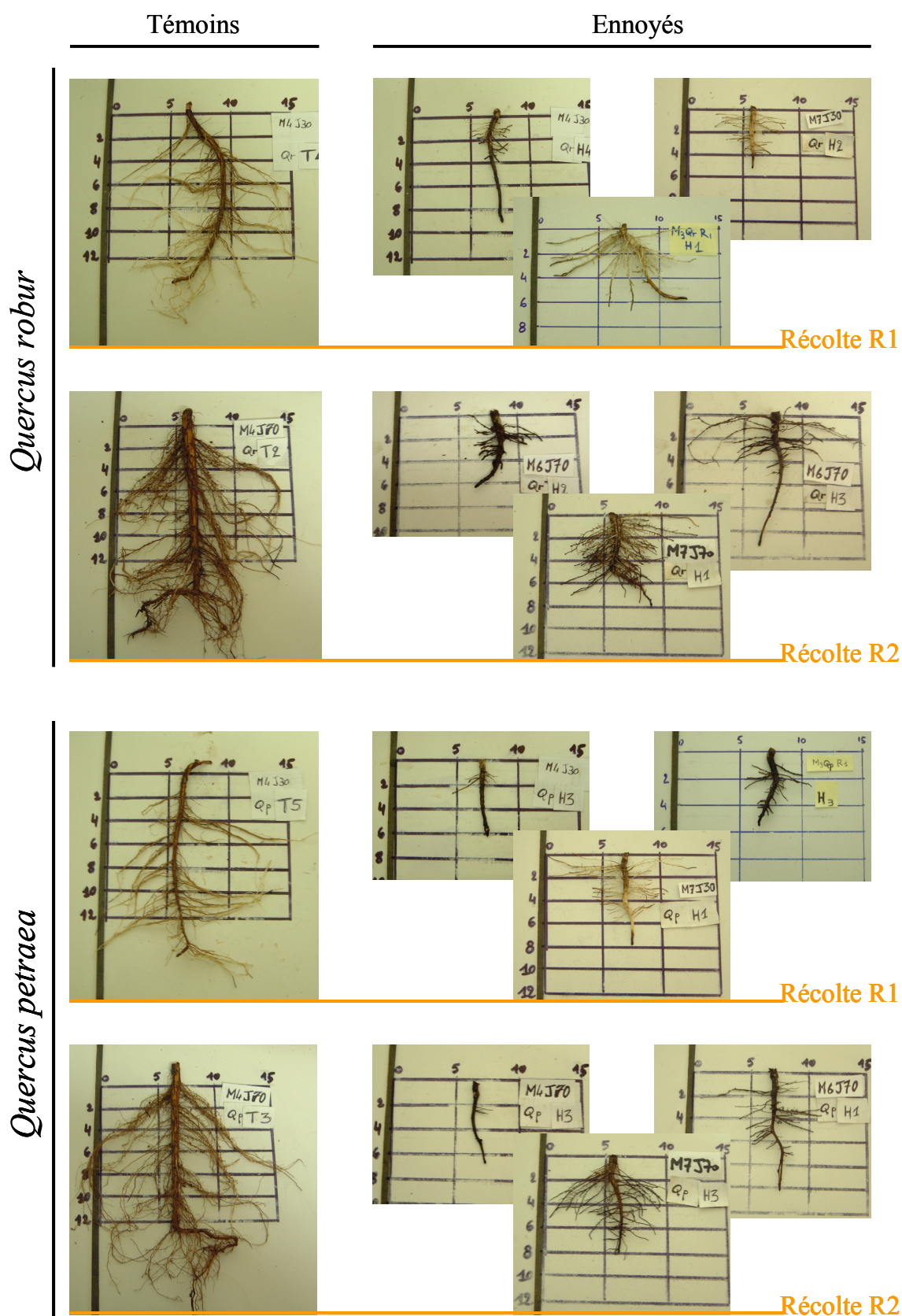


Figure 4. Photos du système racinaire des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* aux récoltes R1 et R2. Les photos des semis ennoyés illustrent la grande diversité du développement racinaire en réponse à l'ennoyage. Le quadrillage de fond, identique sur toutes les photos, fait 2 cm de haut sur 5 cm de large.

Ennoyés puis Drainés (drainage à la récolte R1)

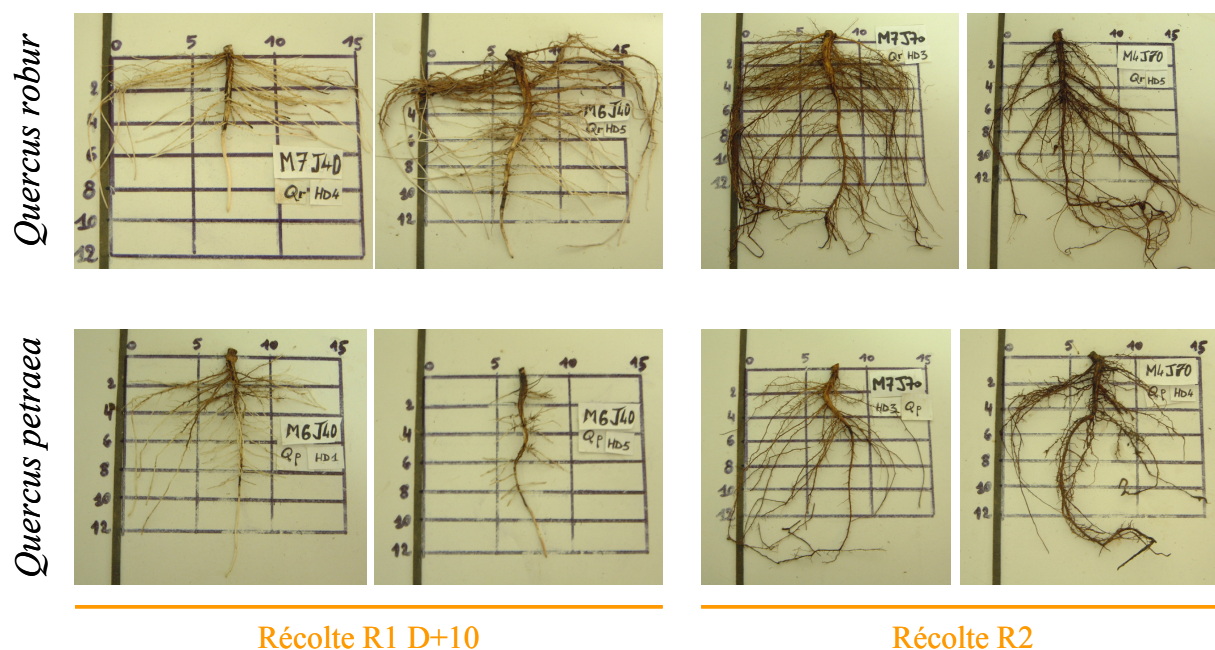


Figure 5. Photos du système racinaire des semis de *Quercus robur* et de *Quercus petraea*, ennoyés pendant la première vague de croissance puis drainés à la récolte R1, aux récoltes R1 D+10 (dix jours après drainage) et R2 (fin de la deuxième vague de croissance). Le quadrillage de fond, identique sur toutes les photos, fait 2 cm de haut sur 5 cm de large.

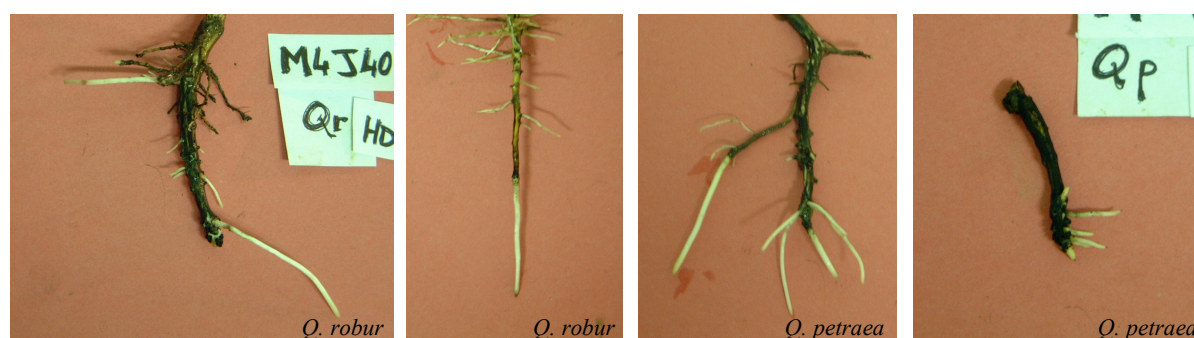


Figure 6. Après 10 jours de drainage (récolte R1 D+10), reprise de la croissance racinaire du pivot et des latérales et mise en place de nouvelles racines latérales. Même lorsque le système racinaire a été particulièrement affecté par l'ennoyage, ces photos illustrent la grande capacité de ces espèces à rétablir rapidement une croissance racinaire dès que les conditions y sont favorables.

IV.3 Potentiel hydrique

Les réponses des semis en matière de potentiel hydrique sont très variables. Les mesures sont réalisées au moment des récoltes, après quelques heures d'éclairement alors que les conditions hydriques ne sont pas homogènes : les mesures ne correspondent pas au potentiel hydrique de base. Les résultats présentés concernent l'expérience réalisée sur les semis d'origine "Montbéliard" (Figure 7a) ainsi que deux expériences qui concernent les semis d'origine "ONF" (Figure 7b et Figure 7c).

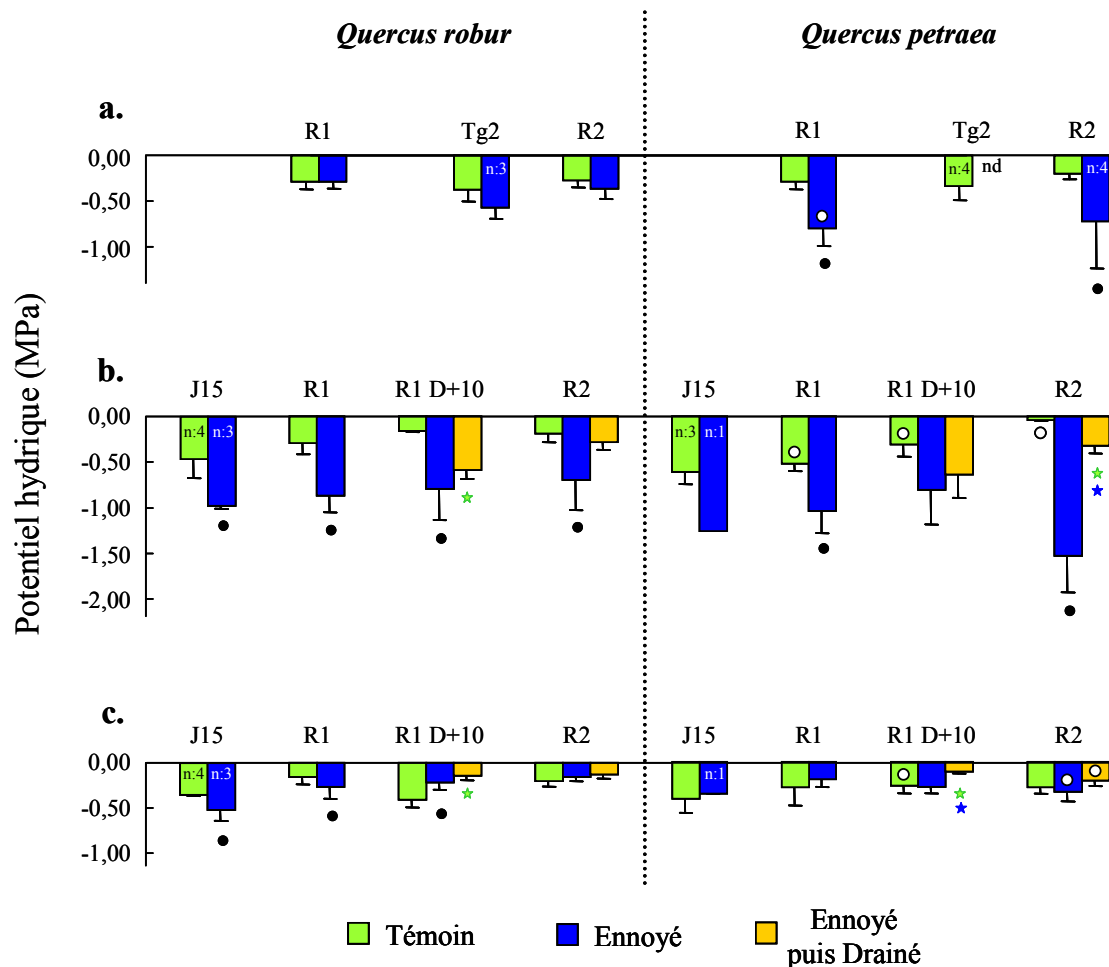


Figure 7. Variations du potentiel hydrique (en MPa) des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" (a) aux récoltes R1, Tg2 et R2, et des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" au cours de deux expériences (b et c) aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1. Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2, ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Dans le premier cas, pour les semis d'origine "Montbéliard" (Figure 7a), seuls les semis ennoyés de *Q. petraea* présentent des valeurs significativement plus faibles que les semis témoins. Pour les semis ennoyés d'origine "ONF" des deux espèces, les potentiels hydriques sont significativement plus faibles que ceux des semis témoins (Figure 7b). Les potentiels hydriques des semis témoins sont aux alentours de -0,5 MPa après 15 jours de croissance (récolte J15), puis ils se rapprochent de 0 MPa au cours de la croissance. Les potentiels hydriques des semis ennoyés des deux espèces restent dans la plupart des cas aux alentours de -1 MPa, et après le développement du deuxième étage (récolte R2) ceux des semis de *Q. petraea* descendent à -1,5 MPa. Dans une autre expérience (Figure 7c), bien que certaines valeurs soient significativement différentes (entre ennoyés et témoins ou entre espèces), les écarts restent relativement peu importants. En effet quels que soient l'espèce ou le traitement les potentiels hydriques restent compris entre -0,5 et -0,1 MPa. En comparaison, en conditions de sécheresse le potentiel hydrique des chênes peut diminuer à -2,5 MPa.

V. Discussion - I -

(I) Développement, croissance aérienne et architecture racinaire des jeunes semis

Une des questions à laquelle nous essayons d'apporter des réponses est la suivante : y-a-t-il des réponses morphologiques différenciant le chêne pédonculé et le chêne sessile dès les premiers stades de croissance des jeunes semis exposés à des conditions d'ennoyage ?

Tout d'abord, les variations du potentiel d'oxydoréduction (Eh) sont très semblables à celles observées par Jackson et Attwood (1996) ou Pezeshki et DeLaune (1998), avec des valeurs très faibles pendant l'ennoyage et un retour aux conditions de normoxie très rapide après drainage. Ces mesures montrent que l'ennoyage est réalisé de manière satisfaisante et qu'il conduit à des conditions anoxiques dans le sol, maintenues pendant toute la durée de la phase de stress. Dans nos conditions expérimentales, les valeurs de Eh sont particulièrement faibles, inférieures à 0, ce qui représente un stress très fort à l'égard de ce qui s'observe sur le terrain. Ce stress de forte intensité permet d'obtenir des réponses à l'ennoyage plus marquées et ainsi de mieux différencier les deux espèces étudiées.

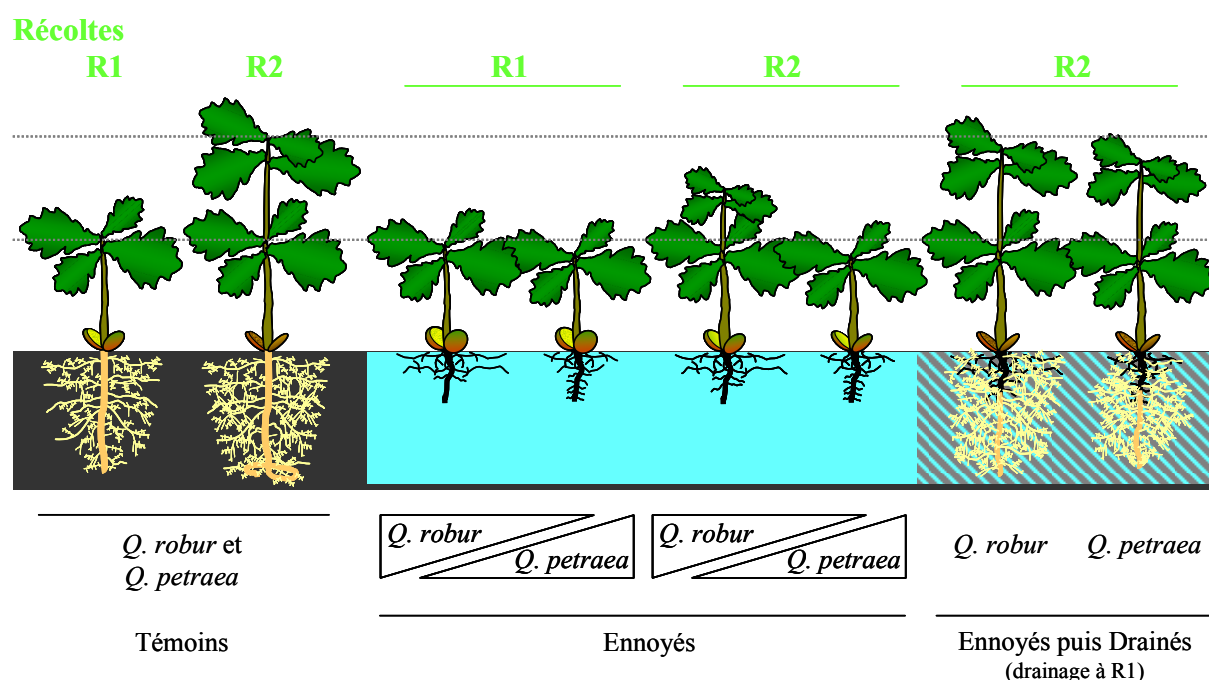


Figure D-I.1. Schéma synthétique des effets de l'ennoyage et d'un drainage suite à l'ennoyage sur la croissance des jeunes semis de chênes pédonculés (*Q. robur*) et de chênes sessiles (*Q. petraea*).

V.1 Croissance et développement de l'appareil aérien

Au cours de l'ensemble des expériences, quelle que soit l'espèce considérée, aucune mortalité des semis n'a été observée à l'issue de la période d'ennoyage, ce qui souligne la tolérance à l'ennoyage relativement élevée chez ces espèces. Ces résultats sont cohérents avec la majorité des études qui traitent de l'effet de l'ennoyage chez *Q. robur* et *Q. petraea*. Cependant, Parelle (2006) avait observé une forte mortalité des semis exposés à des conditions d'ennoyage, en particulier chez *Q. petraea*. Les modalités d'application du stress, l'origine des glands et l'âge des semis qui changent selon les études peuvent être à l'origine de ces différences.

En ce qui concerne la croissance rythmique, chez les deux espèces étudiées, la première vague de croissance n'est pas entravée par l'ennoyage. Quasiment tous les semis ont développé un premier étage foliaire, permettant ainsi l'autotrophie vis-à-vis du carbone. En revanche, le nombre de semis ennoyés capables de poursuivre la croissance aérienne par une deuxième vague est nettement réduit, en particulier chez *Q. petraea*. Chez les deux espèces, l'ennoyage entraîne également un allongement de la durée des différentes phases du développement aérien. Shahriari (2003) a également observé une forte limitation de la croissance rythmique chez les semis de *Q. petraea* exposés à des conditions d'ennoyage. En revanche, contrairement aux résultats obtenus dans la présente étude, chez *Q. robur* Shahriari (2003) n'a pas observé d'altération du caractère rythmique de la croissance aérienne pendant l'ennoyage. Les plants stressés avaient une croissance rythmique en phase avec celle des témoins. L'expression temporelle de la croissance rythmique aérienne répond à des interactions complexes entre différents facteurs. Chez les chênes elle peut être modulée notamment par des changements des teneurs en gibbérellines, des perturbations du développement du système racinaire et de la nutrition minérale (Parmentier 1993).

L'élongation de la tige du premier étage est légèrement mais significativement inhibée par l'ennoyage, uniquement chez *Q. robur*. Ensuite, chez les deux espèces, lorsqu'elle n'est pas interrompue, la croissance en longueur de la tige est nettement réduite par l'ennoyage. Contrairement à ces résultats, chez les semis ennoyés de *Q. robur* Alaoui-Sossé *et al.* (2005) n'ont observé une réduction de l'élongation qu'après le développement du deuxième étage. Chez des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* âgés de 4 mois, Parelle *et al.* (2006) ont observé un arrêt complet de la croissance en longueur suite à l'ennoyage. La réduction de l'élongation des tiges est souvent observée chez les arbres soumis à un stress hypoxique (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Angelov *et al.* 1996, Burke et Chambers 2003). Néanmoins, peu de données sont disponibles sur les deux premières vagues de croissance des chênes ennoyés. Chez les semis de *Q. palustris*, une espèce réputée tolérante à l'ennoyage, l'élongation de la tige n'est pas affectée par l'ennoyage pendant la première année de croissance (Walls *et al.* 2005).

Bien que la croissance en hauteur des tiges soit réduite par l'ennoyage, l'accumulation de biomasse n'y est pas affectée. La croissance radiale des tiges des semis ennoyés est maintenue. Ces résultats impliquent une augmentation du diamètre du collet, qui est courante chez les arbres ennoyés (Angelov *et al.* 1996, Kozłowski 1997). Pendant le stress, les tiges continuent à fonctionner comme des puits de croissance. Des hormones comme les cytokinines pourraient être impliquées dans cette réponse. Les cytokinines sont synthétisées dans les apex racinaires. Elles sont connues pour activer les divisions cellulaires et elles sont impliquées dans la régulation des relations sources-puits (Roitsch et Ehneß 2000). L'ennoyage réduit la croissance racinaire, pouvant entraîner une diminution de la synthèse des cytokinines. Leurs concentrations dans les apex des tiges seraient diminuées, limitant l'élongation des tiges et le développement des étages suivant. Sous ennoyage, la stimulation de la croissance radiale à la base des tiges pourrait être liée à cette hormone qui se trouverait limitée à cette partie de la tige.

La masse et la surface foliaire des deux espèces sont fortement et significativement réduites en conditions d'ennoyage, notamment après le développement du deuxième étage. Les mêmes observations ont été faites chez *Q. robur* par Alaoui-Sossé *et al.* (2005). La réduction de la surface foliaire chez les arbres soumis à un stress hypoxique est une réponse relativement fréquente mais n'est pas systématique (Lopez et Kursar 1999, Santiago *et al.* 2000, Mielke *et al.* 2003). La réduction de la surface foliaire peut contribuer à diminuer l'assimilation globale du carbone des semis et avoir des répercussions sur la croissance à l'échelle de la plante entière (Kozlowski 1997).

Chez les chênes, le développement du premier étage semble en grande partie prédéterminé et serait peu influencée par les facteurs externes du milieu (Scuiller 1990). Cela explique le maintien de la première vague de croissance aérienne chez quasiment tous les semis exposés à des conditions d'ennoyage et la réduction relativement faible de la croissance du premier étage. Cependant, il faut noter que la germination des glands a eu lieu en conditions optimales. L'initiation du développement du premier étage était donc entamée avant la transplantation dans les pots ennoyés. Si les glands étaient placés en conditions d'ennoyage avant germination, il n'est pas certain qu'ils présenteraient un taux de développement du premier étage aussi élevé. Le taux de germination des glands de chêne est généralement réduit par l'ennoyage et la mortalité des glands ennoyés est d'autant plus élevée que l'espèce est sensible à ce stress (Guo *et al.* 1998, Walls *et al.* 2005).

Au cours de ce travail, globalement, chez les deux espèces les effets néfastes de l'ennoyage sur le développement et la croissance aérienne deviennent visibles à partir de la deuxième vague de croissance. Après le développement du deuxième étage, les deux espèces de chênes se différencient plus nettement. Les semis ennoyés de *Q. petraea* montrent une plus forte réduction de la croissance et du développement aérien que ceux de *Q. robur*, en accord avec leur tolérance respective à l'ennoyage.

V.2 Croissance et développement de l'appareil racinaire

Chez les deux espèces, la croissance racinaire est particulièrement inhibée par l'ennoyage en termes d'élongation et d'accumulation de biomasse. L'élongation du pivot est stoppée à environ 8 cm de profondeur. La réduction drastique de la croissance racinaire chez les chênes en conditions d'ennoyage est courante (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Pezeshki *et al.* 1996b, Schmull et Thomas 2000). D'une manière générale, plus le potentiel d'oxydoréduction (Eh) du sol est faible plus la croissance racinaire des arbres est réduite (Kozlowski 1997, Pezeshki et DeLaune 1998).

La masse sèche racinaire des semis ennoyés est très faible par rapport à celle des témoins mais, après le développement du deuxième étage, la différence devient moins importante. En effet, le RGR racinaire met en évidence une très forte croissance après la mise en place du premier étage, en particulier chez les semis de *Q. robur*. Angelov *et al.* (1996) ont constaté

que la tolérance des arbres à l'ennoyage est liée à leur capacité à maintenir une force de puits dans les tissus racinaires. Les semis ennoyés de *Q. robur* ont mis en place un système racinaire plus développé que celui des semis ennoyés de *Q. petraea*. Ces résultats sont cohérents avec ceux déjà obtenus par Dreyer *et al.* (1991) et par Schmull et Thomas (2000) et soulignent la meilleure tolérance à l'ennoyage des semis de *Q. robur* que ceux de *Q. petraea*.

Croissance des racines latérales et architecture racinaire

L'architecture racinaire des semis témoins est très semblable chez les deux espèces. La seule différence observée se situe à la surface du sol (section 0-2 cm de profondeur) où les semis de *Q. robur* ont tendance à développer davantage de racines latérales que ceux de *Q. petraea*. De même, Thomas et Hartmann (1998) et Thomas (2000) n'ont rapporté aucune différence significative dans la distribution verticale des racines entre des arbres adultes de *Q. robur* et de *Q. petraea*.

Pendant le développement du premier étage, les semis témoins ont montré une rapide et forte colonisation des pots par les racines. Chez les deux espèces, l'ennoyage affecte la répartition spatiale et la capacité d'élongation des racines latérales. Sous ennoyage, en raison de l'interruption de la croissance du pivot, seuls les premiers cm du sol peuvent être colonisés par les racines latérales. Ce type de réponse s'observe également sur le terrain où la croissance des racines fines est confinée dans les premiers cm du sol pendant l'ennoyage, alors qu'en situation drainée la colonisation racinaire est nettement plus importante en surface et en profondeur (Lucot et Bruckert 1992, Baker *et al.* 2001, Shahriari 2003).

En réponse à l'ennoyage, on peut observer quelques différences d'architecture racinaire entre les semis de *Q. robur* et de *Q. petraea*. Cependant, au vu de l'hétérogénéité des résultats, notamment d'une expérience à l'autre, il est plus prudent de parler de tendances. Cette hétérogénéité semble principalement liée à une forte variabilité intraspécifique. Les semis ennoyés de *Q. robur* montrent une tendance à maintenir l'élongation et l'initiation racinaire dans les premiers cm du sol avec une inhibition de l'initiation racinaire en profondeur. A l'inverse, la tendance des semis ennoyés de *Q. petraea* est de présenter une initiation racinaire semblable aux témoins tout le long du pivot (même en profondeur), mais avec une élongation drastiquement réduite.

Contrôle du développement et de la croissance racinaire

L'inhibition localisée de la croissance racinaire, en profondeur, pourrait être une conséquence directe de l'ennoyage. Cela correspondrait à l'incapacité des semis à maintenir la croissance, à empêcher la mort et la destruction du système racinaire. Au contraire, cette limitation de la croissance racinaire en profondeur peut être perçue comme une réponse présentant un intérêt en termes de tolérance au stress. En effet, cette réponse pourrait favoriser la survie et le développement des racines localisées en surface, où le sol est généralement mieux oxygéné. Il est intéressant de noter que chez certaines espèces herbacées tolérantes à

l'ennoyage, la nécrose des apex racinaires est suivie de l'initiation de racines superficielles ou adventives (Blom *et al.* 1994, Pezeshki *et al.* 1996a, Bacanamwo et Purcell 1999, Gibberd *et al.* 2001). Ainsi, chez ces espèces exposées à des conditions d'hypoxie, la réduction de la viabilité des apex racinaire est perçue par certains auteurs comme une stratégie de réduction locale de la force des puits et de la demande en oxygène. Cela permettrait d'augmenter la disponibilité en substrats, notamment glucidiques, pour les racines maintenues vivantes, situées plus en surface, et ainsi, d'augmenter le taux de survie des plants (Zeng *et al.* 1999, Subbaiah et Sachs 2003, Gladish *et al.* 2006). Ainsi, la capacité de *Q. robur* à inhiber l'initiation des racines latérales en profondeur, à la différence de *Q. petraea*, entraîne une limitation localisée des puits de croissance. Cela se traduit par une plus grande disponibilité des ressources pour la croissance des racines latérales superficielles. En outre, le maintien de l'initiation racinaire plus en profondeur lors de l'ennoyage, comme observé chez *Q. petraea*, peut se traduire par une dépense inutile (un "gaspillage") d'énergie et de substrat carboné. En effet, dans la mesure où ces racines ne survivent pas au manque d'oxygène, leur développement pendant le stress représente une dépense inutile. Chez le pois, des phénomènes de mort cellulaire programmée peuvent intervenir très rapidement en réponse à l'hypoxie, évitant ainsi une croissance racinaire trop en profondeur et la maintenant dans les zones superficielles (Gladish *et al.* 2006). Toutefois, dans le présent travail, il faut noter que l'on observe en conditions d'ennoyage un arrêt de la croissance du pivot à une faible profondeur aussi bien chez *Q. robur* que chez *Q. petraea*. A partir de ce travail, il n'est pas possible d'affirmer s'il s'agit ou non d'une réponse systématique.

Le développement racinaire est en grande partie contrôlé par différentes phytohormones. En réponse à des conditions de stress, l'équilibre entre les différentes hormones change et modifie la croissance racinaire. L'hormone la plus étudiée chez les plantes exposées à des conditions d'ennoyage est l'éthylène. Elle est perçue comme une hormone clé de la régulation des réponses à l'ennoyage (Grichko et Glick 2001, Jackson 2002, Dat *et al.* 2004, Pierik *et al.* 2007). Le mode d'action de l'éthylène est variable et complexe, en interaction avec les autres hormones végétales, en particulier les gibbérellines et l'acide abscissique (Steffens *et al.* 2006). L'éthylène est notamment impliquée dans la mise en place des racines adventives, en interaction avec les gibbérellines (Liu et Reid 1992, Grichko et Glick 2001, Visser et Voesenek 2005, Steffens *et al.* 2006). Les cytokinines semblent également impliquées dans la croissance des racines latérales. Chez le riz, elles inhibent l'initiation racinaire mais elles stimulent l'élongation des racines latérales (Debi *et al.* 2005).

Il existe également de fortes corrélations entre les concentrations en polyamines et la croissance racinaire. Les polyamines sont fortement impliquées dans le développement racinaire, notamment dans l'élongation des racines latérales et la formation de racines adventives (Couée *et al.* 2004). De plus, des liens métaboliques étroits existent entre la synthèse de l'éthylène et celle des polyamines (Locke *et al.* 2000, Martin-Tanguy 2001, Couée *et al.* 2004). Chez les arbres, d'une manière générale, les polyamines serraient impliquées dans la tolérance aux stress (Gallardo *et al.* 2003). De plus, le métabolisme des polyamines présente des variations importantes suivant les variations environnementales. En

conditions d'ennoyage, les polyamines pourraient jouer un rôle important dans la régulation du développement racinaire.

La régulation hormonale en interaction avec les polyamines pourrait contribuer aux différences de plasticité du système racinaire observées chez *Q. robur* et *Q. petraea* en réponse au stress hypoxique.

Plasticité racinaire et tolérance à l'ennoyage

Pendant la première vague de croissance aérienne, la croissance racinaire est fortement réduite alors que dans le même temps le développement et la croissance des organes aériens sont peu affectés par l'ennoyage. A l'inverse, au cours de la deuxième vague de croissance, le développement du système racinaire est stimulé et présente une forte croissance des racines superficielles alors que, dans le même temps, la partie aérienne est fortement inhibée ou cesse de croître et de se développer.

Pendant le développement du premier étage, il semblerait que la croissance aérienne des semis ennoyés est maintenue au détriment de la croissance racinaire. Dans un premier temps, les ressources carbonées sont donc préférentiellement investies dans le développement de l'appareil aérien. Ceci permet la mise en place de l'appareil foliaire, indispensable pour accéder à l'autotrophie vis-à-vis du carbone. Chez les semis ennoyés, suite au développement du premier étage foliaire, les parties racinaires constituent le puits le plus actif. L'investissement carboné serait alors majoritairement dirigé vers la croissance racinaire, peut être au détriment de la partie aérienne. Un tel phénomène a déjà été décrit chez *Q. lyrata* où la croissance racinaire peut être stimulée par l'ennoyage (Burke et Chambers 2003). Le développement de l'appareil racinaire est alors privilégié, ce qui permettrait à la plante de restaurer (au moins en partie) les capacités fonctionnelles de l'appareil racinaire, notamment par la mise en place de racines superficielles. Chez *Q. robur*, Dreyer *et al.* (1991) ont également observé une alternance d'une phase de dégradation des racines et d'une phase de régénération racinaire intense en conditions d'ennoyage.

Dans nos expériences, les racines superficielles des semis ennoyés sont très peu ramifiées, non subérisées et montre un diamètre supérieur aux racines latérales des semis témoins. Ces racines sont probablement des racines dites d'adaptation, semblables à celles observées par Folzer (2005) chez *Q. petraea* et par Parelle (2006) chez *Q. robur* et *Q. petraea*. La mise en place de telles racines joue vraisemblablement un rôle important dans l'évitement ou la tolérance à l'ennoyage et permet notamment de remplacer les racines mortes ou dont le fonctionnement est altéré par l'hypoxie (Vartapetian et Jackson 1997, Pezeshki 2001).

Chez *Q. robur* et *Q. petraea* soumis à des conditions d'ennoyage, il est courant d'observer la formation de racines superficielles et parfois de racines adventives, au niveau du collet des semis (Colin-Belgrand *et al.* 1991, Dreyer *et al.* 1991, Schmull et Thomas 2000, Shahriari 2003, Folzer 2005, Parelle 2006). *Q. robur* présente une plus forte capacité que *Q. petraea* à former ce type de racines. Dans le présent travail, au cours des deux premières vagues de

croissance aérienne, la mise en place de racines adventives n'a pas été observée. Les semis utilisés ici sont très jeunes, alors que, dans les expériences des auteurs cités précédemment, les semis sont âgés d'au moins quatre mois. De plus, chez les arbres ennoyés, le développement de véritables racines adventives (sur la tige ou le collet) s'observe lorsque le niveau de la nappe d'eau est supérieur au niveau du sol, c'est-à-dire lorsque la tige elle-même est ennoyée (Yamamoto *et al.* 1995, Iwanaga et Yamamoto 2008). Ceci explique vraisemblablement l'absence de cette réponse dans nos expériences.

La plasticité racinaire de *Q. robur*, avec une capacité assez marquée à développer des racines superficielles pendant l'ennoyage, peut être impliquée de manière importante dans la meilleure tolérance à l'ennoyage de cette espèce par comparaison à *Q. petraea*. Sur les stations hydromorphes, la colonisation des horizons superficiels du sol par les racines contribuerait effectivement au meilleur établissement des semis de *Q. robur* par rapport à ceux de *Q. petraea* (Shahriari 2003).

V.3 Effets du drainage

L'application d'un drainage après la mise en place du premier étage permet le développement d'un deuxième étage chez la majorité des semis des deux espèces (respectivement chez 88 et 94% des semis de *Q. petraea* et de *Q. robur*). Le drainage est bénéfique aux deux espèces qui montrent notamment une très forte reprise de la croissance racinaire, favorisée par un retour rapide du sol à des conditions de normoxie. Même chez les espèces tolérantes à l'ennoyage, les périodes de drainage pendant la saison de croissance sont primordiales pour leur développement, aussi bien chez des herbacées (comme *Spartina alterniflora*, Pezeshki 1997), que chez des arbres comme les chênes (Anderson et Pezeshki 1999). Les périodes de drainage permettent de fournir des conditions favorables à la croissance racinaire et ont des répercussions sur la fixation du carbone.

En conditions d'ennoyage, l'apex des pivots semblait être avorté, complètement noirci et d'apparence nécrosée, ce qui était également le cas pour un grand nombre de racines latérales (Figure 4). Cependant, les pivots des semis des deux espèces sont capables de survivre à un ennoyage d'une quarantaine de jours. En effet, après seulement dix jours de drainage, même les apex apparemment morts ont permis une forte reprise de la croissance en longueur du pivot et de la plupart des racines latérales (Figure 5 et Figure 6). Chez des arbres d'espèces plutôt tolérantes à l'ennoyage, une forte reprise de l'élongation des apex racinaires, dont la croissance était stoppée pendant l'ennoyage, a été observée après drainage par Jackson et Attwood (1996) sur *Salix viminalis* et par Poot et Lambers (2003) sur certaines espèces de *Hakea*. Ces résultats soulignent une capacité de résistance à l'ennoyage relativement forte chez les jeunes semis de *Q. robur* mais également chez ceux de *Q. petraea*. Après le développement du deuxième étage, l'architecture racinaire des semis drainés est semblable à celle des témoins. Elle est également similaire chez les deux espèces en termes de nombre et de longueur de racines latérales. Dans les sols à ennoyage temporaire, les fréquentes

variations du régime hydrique influencent directement la dynamique des racines des chênes, en particulier au niveau des racines fines qui montrent d'importantes variations de la croissance et de la mortalité (Baker *et al.* 2001, Burke et Chambers 2003, Shahriari 2003). Il existe un renouvellement des racines qui présentent une mortalité élevée pendant les phases d'excès d'eau et une forte croissance pendant les phases de drainage, notamment en colonisant le sol plus en profondeur. Cependant, la capacité à renouveler les racines dès que les conditions du sol s'améliorent est plus élevée chez *Q. robur*. Dix jours après drainage, *Q. robur* augmente le nombre et l'élongation des racines latérales d'abord en surface, où les conditions de normoxie se rétablissent plus rapidement, alors que *Q. petraea* montre d'abord une reprise de la croissance des racines latérales plus en profondeur. Au vu des masses sèches, on observe clairement la meilleure capacité des semis de *Q. robur* à rétablir un système racinaire développé. En effet, les semis ennoyés de *Q. robur* montrent après drainage une reprise de la croissance racinaire suffisamment forte pour rattraper le niveau des témoins en seulement une vague de croissance. Ainsi, de manière comparable aux résultats obtenus par Jackson et Attwood (1996) et Poot et Lambers (2003), après drainage, la forte reprise de la croissance racinaire de *Q. robur* s'est traduite par un RGR racinaire très important, supérieur à celui des témoins. En revanche, pour les semis de *Q. petraea*, bien que le drainage leur soit également très favorable, la reprise de croissance n'est pas aussi importante et ne permet pas de retrouver des valeurs similaires aux témoins. L'observation des RGRs met en évidence la croissance importante des semis drainés de *Q. robur* et leur supériorité sur les semis de *Q. petraea*. De même, contrairement aux semis de *Q. robur*, après drainage la longueur des tiges des semis de *Q. petraea* reste significativement réduite par rapport à celle des témoins. Par contre, au niveau de la surface foliaire, ni les semis drainés de *Q. robur* ni ceux de *Q. petraea* n'ont récupéré les valeurs observées chez les témoins. Cependant, la surface foliaire des semis drainés de *Q. robur* est significativement supérieure à celle des semis drainés de *Q. petraea*. Une telle différence peut avoir des répercussions sur la capacité globale d'assimilation du carbone, qui est vraisemblablement supérieure chez *Q. robur* au vu de la forte croissance post-hypoxique.

L'effet du drainage permet donc de mieux distinguer les semis de *Q. robur* de ceux de *Q. petraea*. L'aptitude des semis à récupérer du retard de croissance engendré par l'ennoyage est nettement supérieure chez *Q. robur*. Ceci a également été signalé par Shahriari (2003). Chez les espèces amazoniennes, qui sont fortement tolérantes à l'ennoyage, Parolin (2001a) observe une très forte croissance après drainage, permettant de compenser la période de "repos" induite par l'ennoyage. Cette caractéristique que l'on retrouve chez les semis de *Q. robur* souligne leur forte tolérance à l'ennoyage. La différence entre *Q. robur* et *Q. petraea* dans la reprise de croissance pendant la phase de drainage peut être déterminante pour leur établissement sur des stations hydromorphes. Dans les habitats naturels des régions tropicales, lorsque les différences de tolérance à l'ennoyage des arbres sont faibles, c'est la capacité de croissance après ennoyage qui serait prépondérante dans le résultat de la compétition entre espèces (Lopez et Kursar 1999). On peut supposer que ce type de mécanisme existe aussi en

région tempérée. Sur les stations qui présentent des phénomènes d'ennoyage temporaire, même si la croissance des semis est fortement inhibée pendant la période d'excès d'eau, du moment où les semis y survivent, alors la plus forte croissance de *Q. robur* pendant la période de drainage peut lui procurer un avantage décisif par rapport à *Q. petraea* dans la colonisation du milieu. De même, chez des espèces nord-américaines de chêne qui diffèrent dans leur tolérance à l'hydromorphie, alors que peu de différences sont observables durant le stress hypoxique, ce sont les espèces les plus tolérantes qui montrent une meilleure restauration des paramètres physiologiques (photosynthétiques) après drainage (Anderson et Pezeshki 1999). En revanche, après drainage, les espèces les plus sensibles ne sont pas capables de restaurer correctement leur croissance.

V.4 Potentiel hydrique des semis

Les semis ennoyés ont souvent présenté une diminution significative du potentiel hydrique. La chute du potentiel hydrique traduit vraisemblablement un dysfonctionnement au niveau de l'absorption racinaire d'eau, induit par l'ennoyage. Une réduction de la conductivité hydraulique racinaire peut influencer l'état hydrique des tiges avec cependant des conséquences plus ou moins limitées, notamment en fonction de la régulation de la transpiration par le biais de l'ouverture stomatique. Cependant, suite à la dégradation du système racinaire par l'ennoyage, un déficit hydrique associé à une réduction de la conductance hydraulique a été constatée dans de nombreux cas (McLeod *et al.* 1999, Schnull et Thomas 2000, Pezeshki 2001, Jackson *et al.* 2003, Shahriari 2003). La fermeture des aquaporines par des conditions d'hypoxie peut être à l'origine d'une réduction de la conductance hydraulique racinaire (Tournaire-Roux *et al.* 2003).

Cependant, dans le présent travail, les réponses à l'ennoyage au niveau des mesures du potentiel hydrique sont contrastées. Les semis réagissent à l'ennoyage de manière variable. Dans certains cas, aucun signe de stress hydrique n'est détecté. Dreyer (1994) et Wagner et Dreyer (1997) ont également observé une diminution du potentiel hydrique de base chez *Q. robur*, *Q. petraea* et *Q. rubra* en réponse à l'ennoyage, mais dans d'autres expérimentations, avec *Q. robur*, *Q. rubra* et *Q. palustris*, aucune diminution du potentiel hydrique n'a été observée pendant l'ennoyage (Dreyer *et al.* 1991). Bien que les semis ennoyés présentent de sévères dysfonctionnements racinaires, la perturbation des flux hydriques semble assez variable, même chez des espèces sensibles à l'ennoyage tel que *Q. rubra*. Des expériences sur *Q. petraea* ont montré qu'une chute du potentiel hydrique s'opère après seulement quelques heures d'ennoyage (Folzer *et al.* 2006). A plus long terme, il est possible d'avoir une amélioration de l'état hydrique à la suite de réajustements physiologiques (variations de pH, *aquaporines gating*) ou morphologiques (initiation et croissance de nouvelles racines).

Le rapport entre la surface foliaire et la surface racinaire peut également intervenir dans le dysfonctionnement hydrique des semis. En effet, une surface foliaire trop importante par

rapport à un système racinaire réduit peut entraîner des pertes d'eau supérieures aux capacités d'absorption des racines. Or, pendant le développement du premier étage, la partie aérienne des semis ennoyés est nettement plus importante que la partie racinaire. Ensuite, avec la poursuite de la croissance racinaire, ce déséquilibre s'estompe. Différents paramètres de croissance peuvent contribuer à réduire le déficit hydrique engendré par l'ennoyage. La réduction de la surface foliaire peut limiter la transpiration et la croissance racinaire relativement forte après le développement du deuxième étage peut améliorer l'absorption d'eau. Néanmoins, dans ce travail aucune relation n'a pu être établie entre ces paramètres de croissance et les différentes mesures du potentiel hydrique.

Les variations du potentiel hydrique sont probablement liées d'une part au contrôle de la transpiration par fermeture stomatique et d'autre part aux changements du système racinaire. Chez *Q. robur* et *Q. petraea*, en conditions d'hypoxie, la mise en place de nouvelles racines et l'augmentation de la conductance hydraulique racinaire permettent d'améliorer significativement l'état hydrique des semis (Schmull et Thomas 2000).

Parelle (2006) a observé sur certains semis ennoyés de *Q. petraea* et de *Q. robur* de fortes diminutions du potentiel hydrique foliaire, accompagnées d'un dessèchement de l'appareil aérien, parfois suivies de la mort des semis. Ceci est plus fréquent chez *Q. petraea*, témoignant d'un important dysfonctionnement hydrique. La mort des semis est toujours précédée par des phénomènes d'épinastie foliaire. L'épinastie foliaire serait un bon précurseur de la mort des plants et semble donc être un bon indicateur de l'état de stress des semis (Parelle *et al.* 2007a). Cependant, au cours des différentes expériences menées dans le présent travail, les jeunes semis de chêne n'ont jamais présenté de phénomènes d'épinastie foliaire ni de dessèchement de l'appareil foliaire. Les semis ont été soumis au stress dès les premiers stades de croissance. Cette méthode peut permettre une meilleure acclimatation des racines, limitant le stress hydrique. Dans le cas des expériences de Parelle *et al.* (2007a), les semis subissent un ennoyage soudain alors qu'ils sont âgés de quelques mois, avec un système racinaire et foliaire déjà bien développé. Dans ces conditions, il est possible que les réponses à l'ennoyage soient plus marquées.

V.5 Différences entre espèces et selon les provenances des semis

Il existe des différences interspécifiques de croissance entre le chêne pédonculé (*Q. robur*) et le chêne sessile (*Q. petraea*). Il existe aussi de fortes variations intraspécifiques qui s'observent notamment en conditions d'ennoyage. De manière générale, au vu des critères étudiés en conditions d'ennoyage, on observe une meilleure croissance des semis de *Q. robur* d'origine "Montbéliard" par rapport à ceux d'origine "ONF" et, à l'inverse, une plus forte croissance des semis de *Q. petraea* d'origine "ONF" par rapport à ceux d'origine "Montbéliard". De plus, les variations interindividuelles sont plus marquées avec les semis d'origine "ONF". Les glands d'origine "Montbéliard" pourraient correspondre à des écotypes.

En revanche les glands d'origine "ONF" proviennent de populations plus vastes et présentent donc une plus grande diversité.

Les travaux de Parelle (2006) montrent qu'il existe chez *Q. robur* et chez *Q. petraea* une variabilité interindividuelle particulièrement élevée pour tous les caractères de réponse à l'ennoyage, notamment au niveau morphologique. En conditions d'ennoyage les deux espèces peuvent effectivement présenter des réponses très similaires, mais la tolérance à l'ennoyage des individus dépendrait de la combinaison simultanée de plusieurs avantages adaptatifs. En fait, selon Parelle *et al.* (2007a, b), les différences interspécifiques entre ces deux espèces ennoyées seraient liées à la fréquence d'individus présentant des phénotypes extrêmes, combinant plusieurs avantages adaptatifs, plutôt qu'à des différences phénotypiques propres à chaque espèce. De même, dans le présent travail, des phénotypes tolérants apparaissent chez *Q. petraea*, mais la fréquence d'individus présentant des réponses adaptatives, ou des caractères de tolérance, est plus élevée chez *Q. robur*.

VI. Résultats - II -

(II) Gestion des réserves glucidiques et importance des cotylédons

VI.1 Distribution de l'amidon dans les semis

A l'échelle du semis entier, l'accumulation totale d'amidon est très importante au cours de la croissance (Figure 8a). En effet, pendant le développement du deuxième étage, de la récolte R1 à R2, la quantité d'amidon accumulée a triplé dans les semis témoins de *Q. robur* et a plus que doublé dans les semis témoins de *Q. petraea*. Les quantités totales d'amidon des semis témoins sont plus élevées chez *Q. robur* que chez *Q. petraea*, et elles deviennent significativement différentes après la mise en place du deuxième étage (récolte R2).

Après le développement du premier étage, les semis envoyés des deux espèces présentent des quantités totales d'amidon significativement réduites par rapport à leurs témoins respectifs. Cependant, chez les semis envoyés des deux espèces, l'accumulation totale d'amidon entre la récolte R1 et R2 est également élevée. A la fin de l'expérience (récolte R2), la quantité totale d'amidon des semis envoyés des deux espèces n'est plus significativement différente de celle des témoins respectifs (Figure 8a). Les quantités d'amidon des semis envoyés de *Q. robur* sont significativement plus élevées que celles des semis envoyés de *Q. petraea*.

VI.1.1 Accumulation d'amidon dans les racines

Au niveau des différents organes, quelle que soit l'espèce, l'accumulation d'amidon dans les semis témoins et envoyés a principalement lieu dans les racines pivots qui stockent jusqu'à 90% de l'amidon total (Figure 8b).

Les quantités d'amidon dans les racines pivots des semis témoins des deux espèces ont plus que triplé pendant la croissance du deuxième étage (de la récolte R1 à R2). Elles sont plus importantes dans les pivots des semis de *Q. robur* que dans ceux de *Q. petraea* (Figure 8b).

Les quantités d'amidon dans les racines pivots des semis envoyés des deux espèces sont significativement réduites par rapport à celles de leurs témoins, en particulier celles des semis de *Q. petraea* à la récolte R1. Les quantités d'amidon dans les racines pivots des semis envoyés des deux espèces ne représentent qu'environ 50% de celles de leurs témoins respectifs à la récolte R2. La quantité d'amidon stockée dans la racine pivot des semis envoyés de *Q. robur* est significativement supérieure à celle observée chez les semis envoyés de *Q. petraea* (Figure 8b). Les faibles quantités d'amidon observées dans les racines pivots des semis envoyés sont liées à la faible accumulation de biomasse racinaire plutôt qu'à une chute de la concentration en amidon.

Les quantités d'amidon mesurées dans les racines latérales des semis témoins et envoyés des deux espèces sont négligeables (résultats non présentés, valeurs en dessous de la limite de détection).

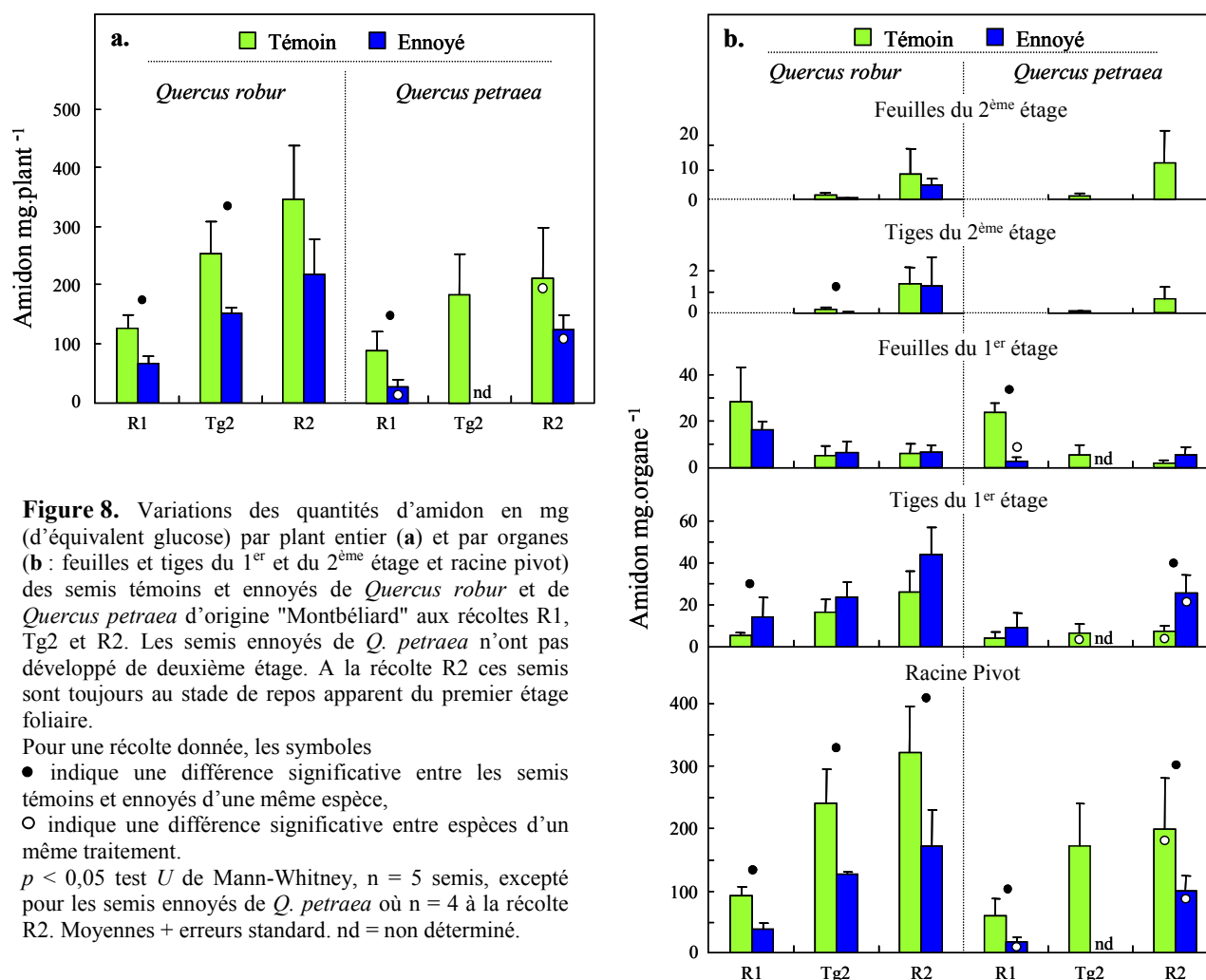


Figure 8. Variations des quantités d'amidon en mg (d'équivalent glucose) par plant entier (a) et par organes (b : feuilles et tiges du 1^{er} et du 2^{ème} étage et racine pivot) des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" aux récoltes R1, Tg2 et R2. Les semis ennoyés de *Q. petraea* n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2 ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire.

Pour une récolte donnée, les symboles
 ● indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
 ○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis, excepté pour les semis ennoyés de *Q. petraea* où $n = 4$ à la récolte R2. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

VI.1.2 Accumulation d'amidon dans les parties aériennes

Dans les feuilles du premier étage, l'évolution des quantités d'amidon sont similaires chez les semis témoins des deux espèces et les semis ennoyés de *Q. robur*, mais pas chez les semis ennoyés de *Q. petraea*. Au cours de la croissance du deuxième étage (récolte Tg2), la quantité d'amidon a diminué d'environ 80% dans les feuilles du premier étage des semis témoins des deux espèces et de 60% dans celles des semis ennoyés de *Q. robur*. Ensuite, les quantités d'amidon dans les feuilles du premier étage restent relativement stables jusqu'à la fin du développement du deuxième étage (récolte R2). En revanche, les quantités d'amidon des feuilles du premier étage des semis ennoyés de *Q. petraea* sont significativement réduites et ne représentent que 11% de celles des témoins dès la fin du développement du premier étage (récolte R1). Elles restent ensuite stables jusqu'à la fin de l'expérience (Figure 8b).

Dans les tiges du premier étage des semis témoins de *Q. robur* et de *Q. petraea*, l'accumulation d'amidon est multipliée respectivement par 4 et par 2 au cours de la croissance du deuxième étage (de la récolte R1 à R2). Les quantités d'amidon dans les tiges du premier étage des semis témoins de *Q. robur* sont similaires à celles des semis témoins de *Q. petraea*

à la récolte R1, puis elles deviennent significativement supérieures lors des récoltes Tg2 et R2. En conditions d'ennoyage, les quantités d'amidon dans les tiges du premier étage des semis des deux espèces sont toujours supérieures à celles de leurs témoins respectifs, avec des différences significatives observées uniquement à la récolte R1 pour *Q. robur* et à la récolte R2 pour *Q. petraea* (Figure 8b).

Dans les feuilles et la tige du deuxième étage, les quantités d'amidon sont faibles. Elles sont similaires entre les semis témoins des deux espèces et entre les semis témoins et ennuyés de *Q. robur* (excepté à la récolte Tg2). Il faut noter que les semis ennuyés de *Q. petraea* n'ont pas produit de deuxième étage foliaire dans cette expérience (Figure 8b).

VI.1.3 Distribution de l'amidon le long des pivots

Les quantités d'amidon par section de 2 cm le long du pivot (Figure 9) sont similaires chez les semis témoins de *Q. robur* et de *Q. petraea* après le développement du premier étage (récolte R1). Par la suite, aux récoltes Tg2 et R2, l'accumulation d'amidon par section de pivot des semis de *Q. robur* est globalement plus forte que celle des semis de *Q. petraea*, mais les seules différences significatives s'observent dans la section supérieure du pivot (entre 0 et -2 cm de fond). Les quantités d'amidon sont relativement constantes entre les différentes sections le long des pivots des semis témoins des deux espèces.

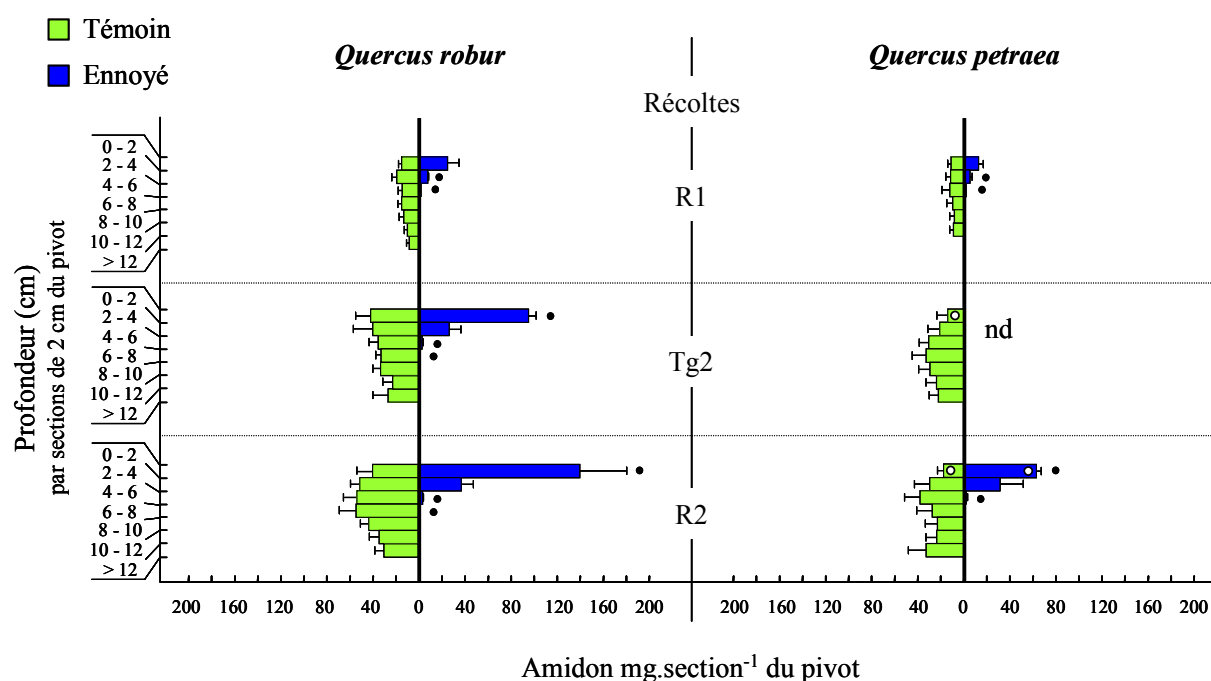


Figure 9. Variations des quantités d'amidon dans la racine pivot en fonction de la profondeur, en mg (d'équivalent glucose) par section de 2 cm du pivot, des semis témoins et ennuyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" aux récoltes R1, Tg2 et R2. Les semis ennuyés de *Q. petraea* n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2 ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire.

Pour une récolte donnée et à une profondeur donnée, les symboles

• indique une différence significative entre les semis témoins et ennuyés d'une même espèce,

○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté les semis ennuyés de *Q. petraea* où $n = 4$ à la récolte R2.

Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Dans les racines pivots des semis ennoyés des deux espèces, l'accumulation d'amidon a lieu essentiellement dans la section supérieure, entre 0 et -2 cm de profondeur (Figure 9). Après le développement du premier étage (récolte R1), dans toutes les sections du pivot des semis ennoyés, les quantités d'amidon sont significativement plus faibles que celles des témoins, sauf entre 0 et -2 cm de profondeur (Figure 9). Ensuite, pendant la croissance du deuxième étage, dans cette section supérieure du pivot les quantités d'amidon deviennent significativement plus élevées que celles des semis témoins. Ainsi, dans la section du pivot entre 0 et -2 cm de profondeur, les semis ennoyés des deux espèces montrent à la récolte R2 des quantités d'amidon environs trois fois plus fortes que celles des témoins respectifs. De plus, à la récolte R2, dans la section du pivot comprise entre -2 et -4 cm de profondeur, les quantités d'amidon des semis ennoyés sont similaires à celles des témoins. Seules les sections du pivot inférieures à -4 cm de profondeur présentent des quantités d'amidon significativement réduites par rapport aux témoins (Figure 9). Les semis ennoyés des deux espèces montrent la même distribution de l'amidon le long des pivots. Cependant, dans la section du pivot entre 0 et -2 cm de profondeur, l'accumulation d'amidon des semis ennoyés de *Q. robur* est nettement plus élevée que celle des semis ennoyés de *Q. petraea*. A la récolte R2, la différence entre les deux espèces ennoyées est significative pour cette section supérieure du pivot, avec dans les semis ennoyés de *Q. robur* des quantités d'amidon 2 fois plus élevées que celles des semis ennoyés de *Q. petraea* (Figure 9).

VI.2 Teneurs en sucres solubles

VI.2.1 Sucres réducteurs

Au cours de la croissance, les deux espèces présentent la même évolution des teneurs en sucres réducteurs dans les racines et les feuilles. De plus, au sein de chaque traitement, très peu de différences significatives sont observables entre les deux espèces (Figure 10). Dans l'ensemble, l'ennoyage provoque une augmentation significative des teneurs en sucres réducteurs dans les feuilles et dans les racines pivots. Ces modifications sont nettement plus marquées dans les feuilles.

Dans les feuilles des semis témoins les teneurs en sucres réducteurs restent relativement stables au cours de la croissance. Par contre, dans les feuilles des semis ennoyés, elles augmentent tout au long de la croissance (Figure 10). Les teneurs en sucres réducteurs dans les feuilles du premier étage des semis ennoyés sont environ deux fois et trois fois supérieures à celles des témoins, respectivement à la récolte R1 et à la récolte R2. Dans les feuilles du deuxième étage, les teneurs en sucres réducteurs des semis ennoyés sont plus élevées que celles des semis témoins, mais la seule différence significative s'observe avec les semis de *Q. petraea*. L'absence de différence significative avec les semis de *Q. robur* est peut être due au faible nombre de répétitions ($n = 2$ en conditions d'ennoyage).

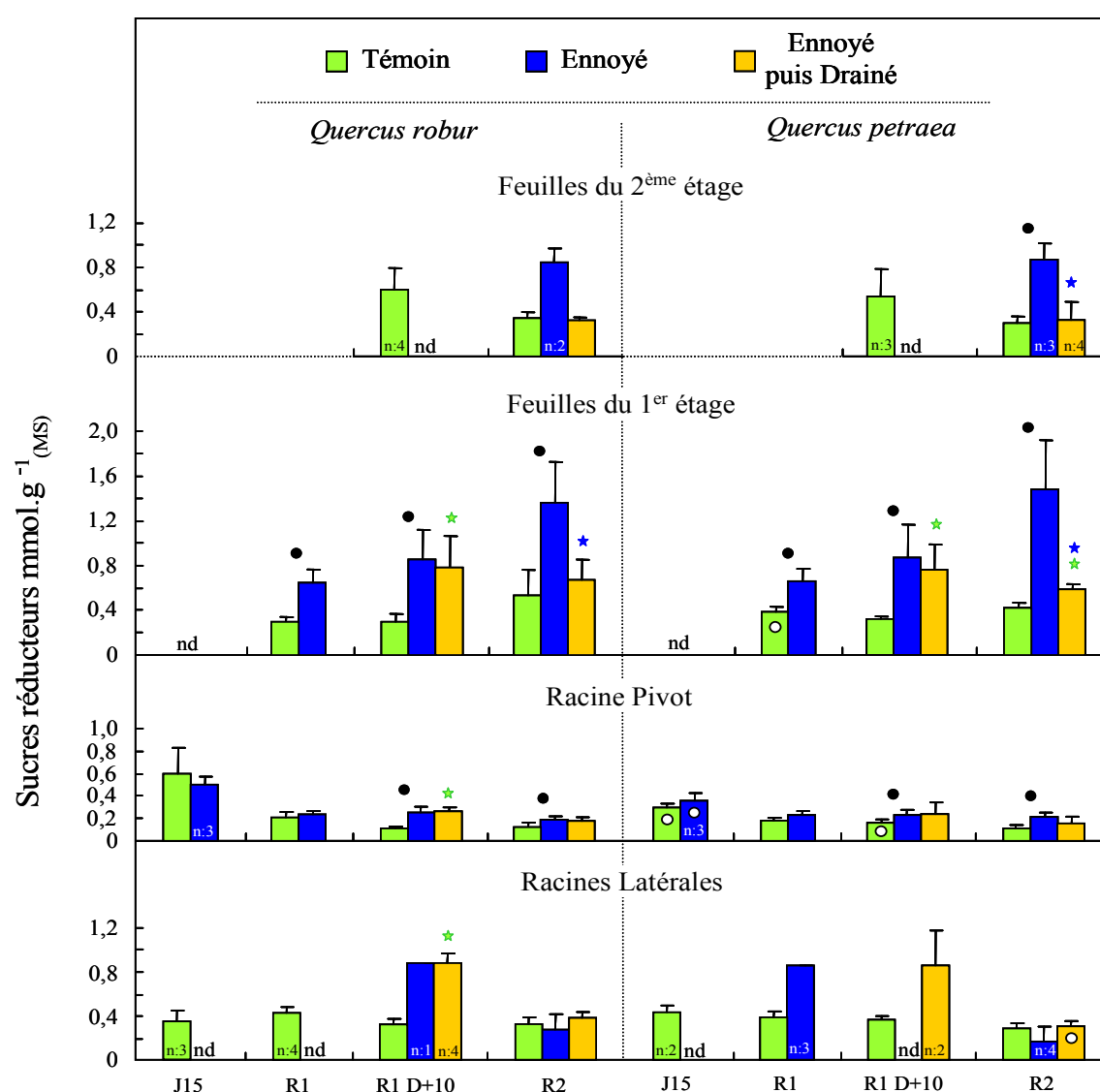


Figure 10. Variations des teneurs en sucres réducteurs, en mmol.g⁻¹ de matière sèche (MS), dans les feuilles du 1^{er} et du 2^{ème} étage et dans les racines pivot et latérales des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

● indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,

○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,

★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,

★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

p < 0,05 test U de Mann-Whitney, n = 5 semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Dans les racines pivots, les teneurs en sucres réducteurs sont nettement plus faibles que dans les feuilles, d'environ deux à trois fois pour les semis témoins et de deux à huit fois pour les semis ennoyés. Pendant le premier étage de croissance (récoltes J15 et R1) les teneurs en sucres réducteurs des racines pivots des semis ennoyés sont similaires à celles des semis témoins. Ensuite, aux récoltes R1 D+10 et R2, elles deviennent légèrement mais significativement plus élevées (Figure 10).

Dans les racines latérales, aucune différence significative n'est observée entre les semis ennoyés et témoins. Le faible nombre de répétitions réduit l'interprétation de ces résultats. Il est possible que l'ennoyage provoque une augmentation des teneurs en sucres réducteurs dans les racines latérales. Cependant, après le développement du deuxième étage (récolte R2), ces teneurs sont similaires à celles des témoins (Figure 10).

Après drainage des semis ennoyés, les teneurs en sucres réducteurs dans les feuilles et les racines des deux espèces diminuent. Elles atteignent après le développement du deuxième étage (récolte R2) des teneurs proches de celles des témoins (Figure 10).

VI.2.2 Sucres solubles totaux et saccharose

Les dosages des teneurs en sucres solubles totaux et en saccharose ont été réalisés dans les feuilles des semis d'origine "Montbéliard" (Figure 11). Les modifications des teneurs en sucres solubles totaux que l'ennoyage provoque dans les feuilles des semis "Montbéliard" ressemblent à celles observées avec les sucres réducteurs dans les feuilles des semis "ONF" (Figure 10).

Dans les feuilles du premier étage des semis ennoyés des deux espèces, tout au long de la croissance, les teneurs en sucres solubles sont significativement supérieures à celles des témoins (Figure 11). Dans les feuilles du premier étage des semis de *Q. robur*, la teneur en sucres solubles totaux augmente au cours de la croissance, particulièrement celle des semis ennoyés qui double pratiquement de la récolte R1 à R2. Cette augmentation au cours de la croissance n'a pas lieu chez les semis de *Q. petraea*, dont les teneurs en sucres restent relativement stables et montrent même une légère diminution en conditions d'ennoyage (Figure 11). Quels que soient le traitement et l'étage foliaire, aux récoltes Tg2 et R2, les teneurs en sucres solubles totaux dans les feuilles des semis de *Q. petraea* sont significativement plus faibles que celles des semis de *Q. robur* (Figure 11).

Dans les feuilles du deuxième étage des semis ennoyés de *Q. robur*, à la récolte R2, la teneur en sucres solubles totaux est significativement plus élevée que celle des témoins (Figure 11). Les semis de *Q. petraea* ennoyés n'ont pas développé un deuxième étage dans cette expérience.

Les teneurs en saccharose des semis ennoyés sont similaires à celles des semis témoins. De plus, les teneurs en saccharose dans les feuilles des deux étages restent relativement stables tout au long de la croissance des semis des deux espèces (Figure 11). Les semis de *Q. petraea* ont globalement dans les feuilles des teneurs en saccharose qui sont significativement plus faibles que celles des semis de *Q. robur* (Figure 11). Quelques mesures des teneurs en saccharose foliaire ont été réalisées sur les semis "ONF" et n'ont pas montré de différence significative entre les semis témoins et ennoyés (résultats non présentés).

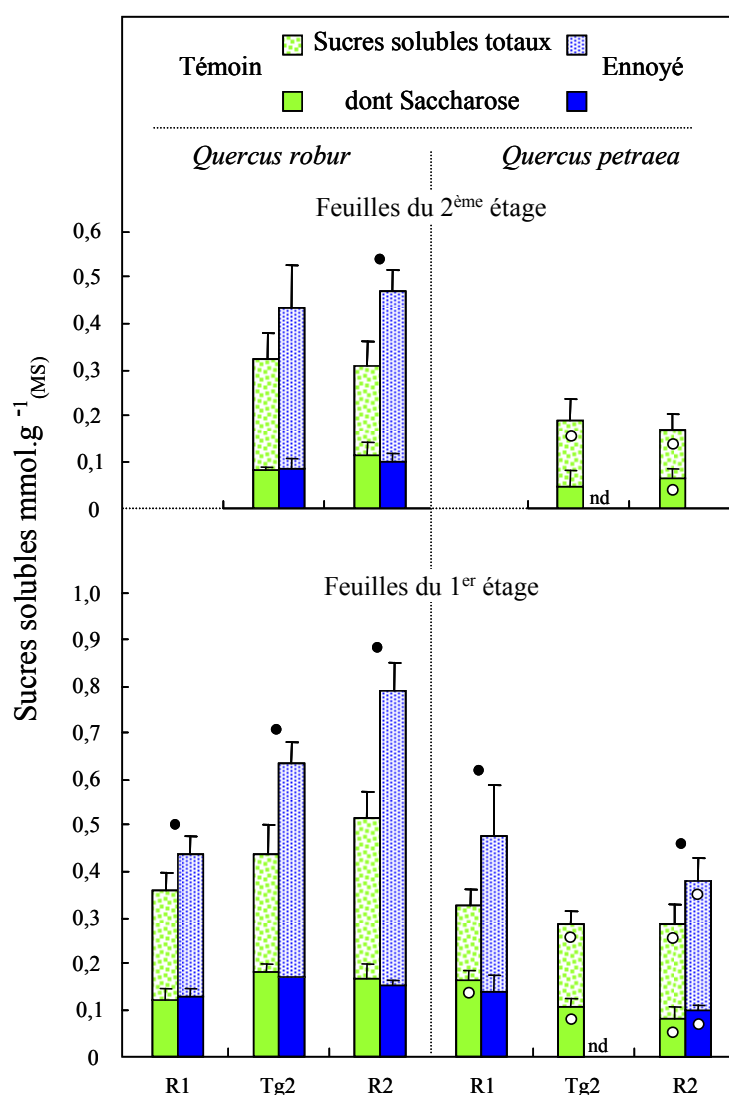


Figure 11. Variations des teneurs en sucres solubles totaux et en saccharose, en mmol.g^{-1} de matière sèche (MS), dans les feuilles du 1^{er} et du 2^{ème} étage des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" aux récoltes R1, Tg2 et R2. Les semis ennoyés de *Q. petraea* n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2, ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire.

Pour une récolte donnée, les symboles
 • indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
 ○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté pour les semis ennoyés de *Q. petraea* où $n = 4$ à la récolte R2. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

VI.3 Réserves cotylédonaire

VI.3.1 Evolution de la biomasse cotylédonaire

La masse sèche initiale des glands d'origine "Montbéliard" de *Q. robur* est significativement supérieure à celle de *Q. petraea*. Quant à la masse sèche initiale des glands d'origine "ONF" de *Q. robur*, elle est également supérieure à celle de *Q. petraea* mais sans présenter de différence significative (Tableau 4). Dans l'ensemble, les glands utilisés d'origine "Montbéliard" étaient de plus petite taille que ceux d'origine "ONF". De plus, la masse des glands d'origine "ONF" présentent une plus grande hétérogénéité que celle des glands d'origine "Montbéliard". Ce qui est à l'origine d'erreurs standards sur les masses cotylédonaire initiales (à J0) plus élevées avec l'origine "ONF". Par la suite, les masses sèches cotylédonaire des deux provenances montrent globalement les mêmes évolutions.

Tableau 4. Variations des masses sèches (mg) des cotylédons des semis témoins (T) et ennoyés (E) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" aux récoltes J0, R1, Tg2 et R2, et des semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J0, J15, R1, R1 D+10 et R2. Les valeurs présentées pour les semis d'origine "ONF" correspondent aux moyennes des résultats obtenus au cours de plusieurs expériences, après avoir vérifié pour chaque combinaison espèce / traitement / récolte qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différentes expériences (test de Kruskal-Wallis).

Origine des glands	Récoltes	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
		T	E	ED	T	E	ED
Montbéliard	J0	1920 ± 114	1918 ± 153		1441 ± 335 ε	1355 ± 294 ε	
	R1	821 ± 78	1430 ± 192 *		395 ± 132 ε	591 ± 138 ε	
	Tg2	695 ± 141	1221 ± 212 *		319 ± 20	nd	
	R2	568 ± 117	1168 ± 189 *		363 ± 153	319 ± 43 ε	
ONF	J0	2754 ± 1027	2764 ± 1019	2655 ± 1171	1901 ± 883	1890 ± 771	1526 ± 623
	J15	2211 ± 632	2654 ± 544		1133 ± 456 ε	1289 ± 444 ε	
	R1	903 ± 290	1871 ± 557 *		637 ± 286 ε	1298 ± 606 *ε	
	R1 D+10	827 ± 412	1741 ± 737 *	1576 ± 555 ×	403 ± 214 ε	912 ± 616 *ε	766 ± 272 ×ε
	R2	610 ± 176	1392 ± 401 *	820 ± 411 ø	423 ± 199 ε	674 ± 372 *ε	455 ± 219 ε

Pour une origine des glands donnée et une récolte donnée, les symboles

nd : non déterminé

* indique une différence significative entre les semis T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les semis T et ED d'une même espèce,

ø indique une différence significative entre les semis E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

Les cotylédons des semis témoins des deux espèces montrent à la fin du premier étage de croissance (récolte R1) une diminution significative de leur biomasse sèche initiale, de l'ordre de 60 à 70%. Cette chute de la biomasse cotylédonaire est plus prononcée avec les semis de *Q. petraea*. Les biomasses cotylédonaires des semis témoins de *Q. petraea* évoluent peu pendant la formation du deuxième étage (de la récolte R1 à R2), et celles des semis témoins de *Q. robur* diminuent progressivement tout au long de la croissance.

En conditions d'ennoyage, la perte de biomasse cotylédonaire est moins prononcée, en particulier chez les semis de *Q. robur* (Tableau 4). Au cours du développement du premier étage (de J0 à R1), la plus faible diminution de biomasse cotylédonaire (25% de la biomasse initiale) est observée chez les semis de *Q. robur* d'origine "Montbéliard". La plus prononcée (55%) est observée chez les semis de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard". Chez les semis d'origine "ONF", les deux espèces montrent en conditions d'ennoyage une diminution intermédiaire de la biomasse cotylédonaire (d'environ 32%). De la récolte R1 à R2, les masses sèches cotylédonaires des semis ennoyés sont significativement supérieures à celles de leurs témoins respectifs, à l'exception des semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" dont les masses cotylédonaires deviennent similaires à celles des témoins (Tableau 4).

VI.3.2 Mobilisation de l'amidon des cotylédons

La teneur cotylédonaire initiale (récolte J0) en amidon est similaire chez les deux espèces et également chez les deux origines "Montbéliard" et "ONF" (Figure 12a et Figure 12b). Par contre, la taille initiale des glands étant différente entre espèces et entre provenances, les quantités totales d'amidon des réserves cotylédonaires initiales ne sont pas toujours similaires entre elles. Chez les semis d'origine "Montbéliard", les semis de *Q. robur* ont des réserves initiales d'amidon significativement plus importantes que celles des semis de *Q. petraea* (Figure 12a). Chez les semis d'origine "ONF", les réserves initiales en amidon des cotylédons de *Q. robur* et de *Q. petraea* sont similaires (Figure 12b), et elles sont significativement plus importantes que celles des semis d'origine "Montbéliard".

En conditions d'ennoyage, les différences entre *Q. robur* et *Q. petraea* dans leurs capacités de mobilisation de l'amidon sont plus marquées chez les semis d'origine "Montbéliard" que chez ceux d'origine "ONF".

Chez les semis d'origine "Montbéliard", la quantité d'amidon cotylédonaire des semis témoins des deux espèces chute rapidement (Figure 12a). Dès la fin du développement du premier étage (récolte R1), les réserves cotylédonaires initiales en amidon des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* diminuent respectivement de 89 et 99%. En revanche, en conditions d'ennoyage, l'hydrolyse de l'amidon cotylédonaire est fortement et significativement ralentie, en particulier pour les semis de *Q. robur* (Figure 12a). A la récolte R1, les quantités initiales d'amidon dans les cotylédons des semis ennoyés de *Q. petraea* diminuent de 88% contre seulement 41% pour celles des semis ennoyés de *Q. robur*. A la fin de l'expérience (récolte R2), les réserves d'amidon des cotylédons des semis ennoyés de *Q. petraea* sont complètement épuisées, alors que celles des semis ennoyés de *Q. robur* représentent encore 38% des quantités initiales (Figure 12a).

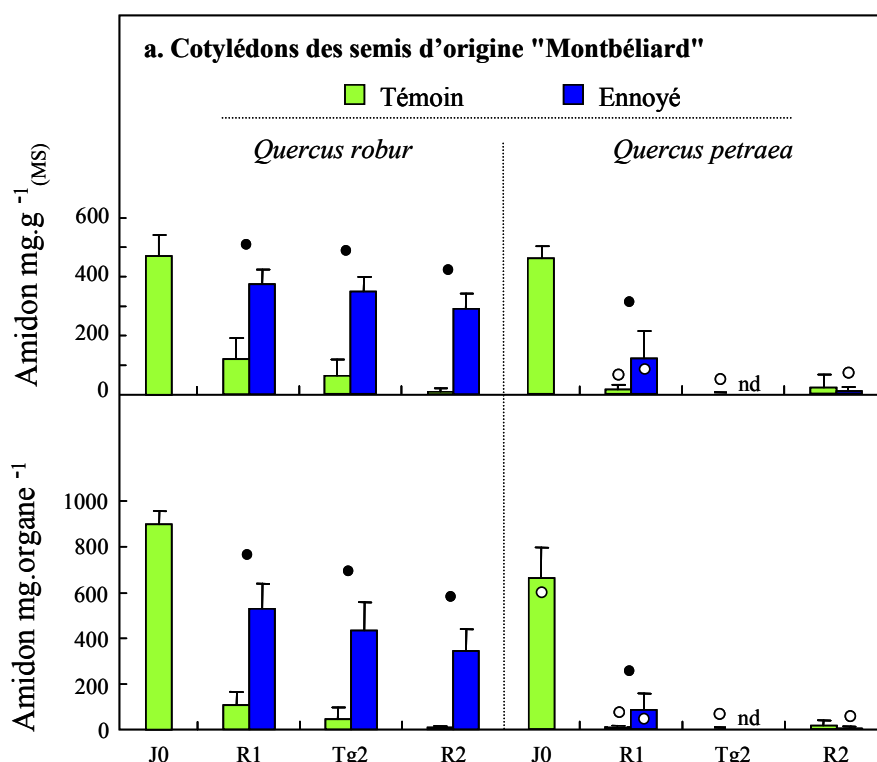


Figure 12. Variations des teneurs en amidon exprimées en équivalent glucose, en mg.g^{-1} de matière sèche (MS), et des quantités totales en amidon (équivalent glucose en mg.organe^{-1}) des cotylédons (a) des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" aux récoltes J0, R1, Tg2 et R2, et (b) des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J0, J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1. Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard" (a) n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2 ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire. Les mesures sur les semis d'origine "ONF" (b) ont été effectuées sur les mêmes semis que ceux utilisés dans les Figure 13 et Figure 16.

Pour une récolte donnée, les symboles

● indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,

○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,

★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,

☆ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté pour les semis ennoyés de *Q. petraea* où $n = 4$ à la récolte R2.

Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Chez les semis d'origine "ONF" (Figure 12b), les témoins présentent une évolution des réserves d'amidon cotylédonaire similaire à celle des semis témoins d'origine "Montbéliard". Après 15 jours de croissance (récolte J15), les teneurs cotylédonaire en amidon sont similaires aux teneurs initiales, mais les quantités totales d'amidon cotylédonaire des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* ont déjà chutées de 30 et 50% respectivement. A la récolte J15, cette diminution est déjà significativement plus forte chez les semis témoins de *Q. petraea* que chez ceux de *Q. robur*.

En conditions d'ennoyage, les semis de *Q. robur* présentent toujours un fort ralentissement de l'hydrolyse des réserves amylacées. Cependant, le contraste entre les semis ennoyés des deux espèces est atténué. Les teneurs cotylédonaire en amidon des semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "ONF" (Figure 12b) restent relativement élevées en comparaison de celles observées chez les semis d'origine "Montbéliard" (Figure 12a). Les semis ennoyés de *Q. petraea* d'origine "ONF" présentent une évolution de leurs réserves cotylédonaire en

amidon qui se rapproche de celle des semis envoyés de *Q. robur*. Néanmoins, ces réserves restent significativement plus faibles que celles des semis envoyés de *Q. robur*, excepté à la dernière récolte (R2).

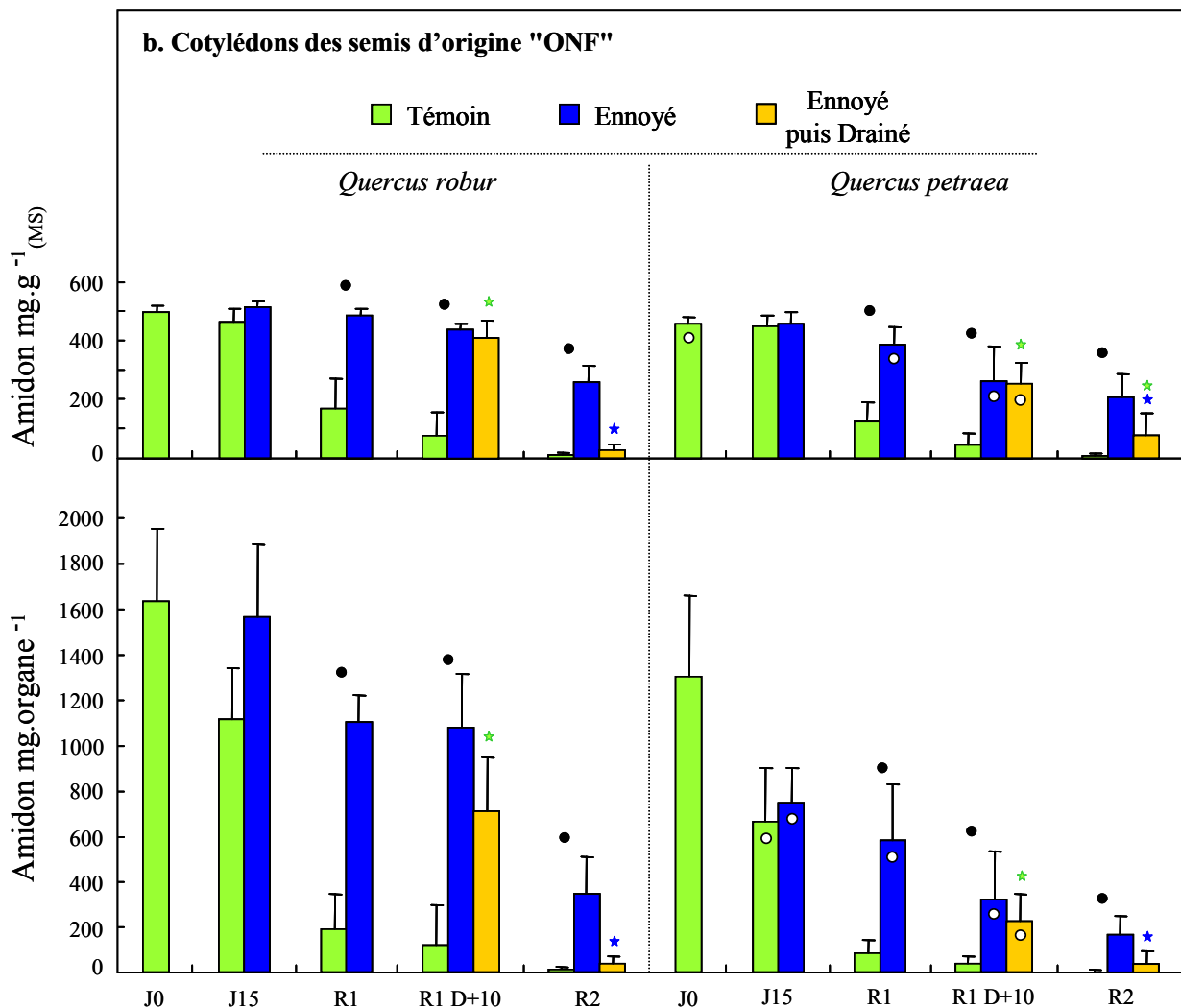


Figure 12b.

Suite au drainage des semis envoyés (après la récolte R1), les deux espèces montrent une utilisation de leurs réserves cotylédonaire d'amidon plus importante que les semis maintenus envoyés. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), les réserves d'amidon cotylédonaire des semis drainés des deux espèces sont similaires à celles des semis témoins (Figure 12b).

VI.3.3 Vitesse de mobilisation des réserves cotylédonaire

Le RMR (*Relative Mobilisation Rate*) représente le taux de mobilisation journalier des réserves (en $\text{mg.g}^{-1}.\text{j}^{-1}$), c'est-à-dire la vitesse de mobilisation de ces réserves. Cela permet de prendre en compte les variations de la durée de croissance des semis et de s'abstraire de la

taille initiale des glands, ce qui facilite les comparaisons entre espèces et entre origines des glands (Tableau 5a et Tableau 5b).

Tableau 5. Evolution des taux de mobilisation des réserves cotylédonaire, *Relative Mobilisation Rate* (RMR, en $\text{mg.g}^{-1}.\text{j}^{-1}$), de la masse sèche (a) et de l'amidon (b) des semis témoins (T) et ennoyés (E) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" pendant les périodes de croissance comprises entre les récoltes J0-R1, R1-R2 et J0-R2 et des semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" pendant les périodes de croissance comprises entre les récoltes J0-R1, J0-J15, J15-R1, R1-R2 et J0-R2. Le drainage des semis ennoyés d'origine "ONF" est réalisé à la récolte R1. n = 5 semis.

a. RMR de la masse sèche cotylédonnaire ($\text{mg.g}^{-1}.\text{j}^{-1}$)

Origine des glands	Période de croissance	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
		T	E	ED	T	E	ED
Montbéliard	J0-R1	-25	-10		-40	-30	
	R1-R2	-14	-6		-2	-11	
	J0-R2	-21	-8		-21	-16	
ONF	J0-R1	-37	-16		-41	-21	
	J0-J15	-31	-22		-43	-25	
	J15-R1	-47	-15		-40	-5	
	R1-R2	-7	-12	-17	-14	-13	-24
	J0-R2	-24	-13	-18	-26	-14	-16

Les RMRs de la biomasse cotylédonnaire des semis de *Q. robur* sont plus élevés chez les glands d'origine "ONF" que chez ceux d'origine "Montbéliard". En revanche, ils sont similaires chez les deux origines des semis de *Q. petraea* (Tableau 5a). Dans l'ensemble, les RMRs de la biomasse cotylédonnaire des semis de *Q. petraea* sont plus élevés que ceux des semis de *Q. robur*.

Le RMR de la biomasse cotylédonnaire est plus important pendant le développement du premier étage (période J0-R1) que pendant le développement du deuxième étage (période R1-R2), quels que soient les traitements, l'espèce et l'origine des glands (Tableau 5a).

En conditions d'ennoyage, les RMRs de la biomasse cotylédonnaire des deux espèces sont moins fort que ceux des témoins, excepté celui des semis de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard".

Après drainage des semis ennoyés (ED), les RMRs de la biomasse cotylédonnaire pendant le développement du deuxième étage (période R1-R2) montrent que la mobilisation de la biomasse cotylédonnaire est plus forte que celle des semis maintenus ennoyés (E) et également des semis témoins (Tableau 5a).

Les RMRs de l'amidon cotylédonaire ne suivent pas toujours ceux de la biomasse (Tableau 5b). La mobilisation de l'amidon cotylédonaire est moins importante pendant les 15 premiers jours de croissance (de J0 à J15). Les RMRs de l'amidon cotylédonaire des semis témoins (T) des deux espèces sont ensuite importants jusqu'à la fin de l'expérience. Chez les semis témoins de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard", les réserves amylacées s'épuisent avant la récolte R1, d'où des valeurs de RMR nuls pendant la période de croissance du deuxième étage (R1-R2).

Tableau 5.

b. RMR de l'amidon cotylédonaire (mg.g⁻¹.j⁻¹)

Origine des glands	Période de croissance	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
		T	E	ED	T	E	ED
Montbéliard	J0-R1	-37	-6		-108	-46	
	R1-R2	-118	-13		0	-60	
	J0-R2	-∞	-7		-∞	-∞	
ONF	J0-R1	-78	-16		-85	-27	
	J0-J15	-36	-20		-44	-25	
	J15-R1	-92	-18		-107	-13	
	R1-R2	-87	-24	-71	-83	-25	-53
	J0-R2	-81	-22	-56	-89	-24	-44

En conditions d'ennoyage, les RMRs de l'amidon cotylédonaire restent relativement stables au cours de la croissance (Tableau 5b). Sur l'ensemble des semis ennoyés, les RMRs de l'amidon cotylédonaire les moins importants sont observés chez les semis de *Q. robur* d'origine "Montbéliard" et les plus importants chez les semis de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard". Dans tous les cas, le taux de mobilisation de l'amidon des semis ennoyés de *Q. petraea* est plus important que celui des semis de *Q. robur*.

Après drainage (semis ED), les RMRs de l'amidon cotylédonaire pendant le développement du deuxième étage (période R1-R2) sont nettement plus importants que ceux des semis maintenus ennoyés (E), et se rapprochent de ceux des semis témoins. Les semis drainés de *Q. robur* présentent une plus forte mobilisation des réserves en amidon cotylédonaire que les semis drainés de *Q. petraea* (Tableau 5b).

VI.3.4 Teneurs en sucres solubles des cotylédons

Les semis des deux espèces présentent des teneurs cotylédonaires en sucres globalement similaires, qui suivent la même évolution au cours de l'expérience (Figure 13).

Les semis témoins montrent au cours de la croissance une augmentation des teneurs en sucres réducteurs cotylédonaires avec des valeurs environ deux à trois fois plus élevées que les valeurs initiales (récolte J0). Cette augmentation est légèrement plus marquée chez les

semis de *Q. petraea* dont des teneurs en sucres réducteurs sont plus élevées que celles des semis de *Q. robur* (avec quelques différences significatives).

La teneur cotylédonaire en saccharose diminue régulièrement tout au long de la croissance des semis témoins des deux espèces (Figure 13). Les teneurs cotylédonaires en saccharose des semis de *Q. petraea* sont initialement (récolte J0) significativement plus élevées que celles des semis de *Q. robur*. Ensuite, pour les autres récoltes, ces teneurs en saccharose restent très proches chez les deux espèces.

Les semis ennoyés des deux espèces présentent une modification de leurs teneurs cotylédonaires en sucres avec globalement, par rapport aux témoins, d'une part des teneurs en sucres réducteurs plus faibles et d'autre part des teneurs en saccharose plus élevées (Figure 13).

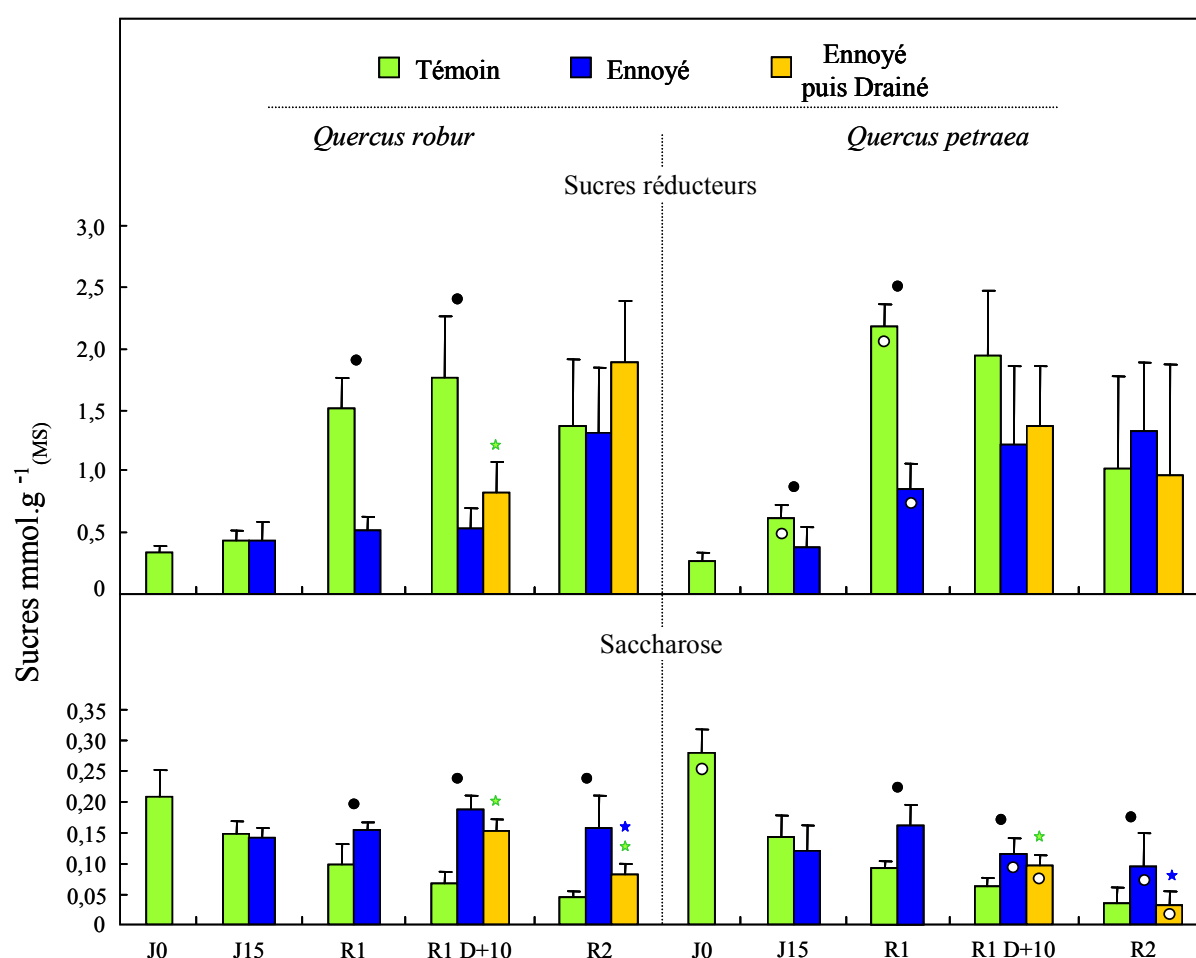


Figure 13. Variations des teneurs en sucres réducteurs et en saccharose, en mmol.g⁻¹ de matière sèche (MS), dans les cotylédons des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J0, J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1. Ces mesures ont été effectuées sur les mêmes semis que ceux utilisés dans les Figure 12 et Figure 16.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis. Moyennes + erreurs standard.

Les teneurs cotylédonaire en sucres réducteurs chez les semis ennoyés de *Q. robur* restent dans un premier temps similaires à leur teneur initiale, contrairement à ce qui s'observe chez les témoins. Elles deviennent significativement plus faibles que celles des témoins. Ensuite, uniquement en fin d'expérience, elles augmentent et atteignent des valeurs similaires à celles des témoins (récolte R2). Les semis ennoyés de *Q. petraea* présentent également des teneurs cotylédonaire en sucres réducteurs significativement réduites par rapport aux témoins (aux récoltes J15 et R1), mais elles augmentent tout au long de l'expérience (Figure 13).

Les teneurs cotylédonaire en saccharose des semis ennoyés des deux espèces sont significativement supérieures à celles des témoins après le développement du premier étage et jusqu'à la fin de l'expérience (des récoltes R1 à R2). Les teneurs cotylédonaire en saccharose des semis ennoyés de *Q. robur* restent relativement proches de leur teneur initiale tout au long de l'expérience. En revanche, celles des semis ennoyés de *Q. petraea* montrent une forte diminution après 15 jours de croissance (récolte J15), puis elles restent relativement stables. Pendant le développement du deuxième étage, les teneurs cotylédonaire en saccharose des semis ennoyés de *Q. petraea* sont significativement plus faibles que celles des semis ennoyés de *Q. robur* (Figure 13).

Après drainage des semis ennoyés des deux espèces, les teneurs cotylédonaire en sucres réducteurs sont similaires à celles des semis maintenus ennoyés et à celles des semis témoins (uniquement à la récolte R2 pour les semis témoins de *Q. robur*). Les teneurs cotylédonaire en saccharose des deux espèces diminuent après drainage. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), elles sont significativement plus faibles que celles des semis maintenus ennoyés, et celles des semis drainés de *Q. petraea* deviennent similaires à celles des témoins. Les teneurs cotylédonaire en saccharose des semis drainés de *Q. petraea* sont significativement plus faibles que celles des semis drainés de *Q. robur* (Figure 13).

VI.4 Evolution des réserves glucidiques dans les cotylédons dont on empêche les activités photosynthétiques

A la suite des analyses des réserves amylacées cotylédonaire (Figure 12), il a semblé intéressant d'évaluer l'impact de la photosynthèse cotylédonaire sur l'évolution des réserves d'amidon et des teneurs en sucres dans les cotylédons. Dans ce but, une expérience a été réalisée dans les mêmes conditions de culture (avec des glands d'origine "ONF") en recouvrant les cotylédons avec du papier d'aluminium, au moment de la transplantation, afin d'empêcher toute activité photosynthétique cotylédonaire. Ces cotylédons protégés de la lumière n'ont pas verdi et ont conservé leur couleur initiale (blanc, orangé).

VI.4.1 Mobilisation de l'amidon des cotylédons

En empêchant les activités photosynthétiques des cotylédons, quels que soient le traitement et l'espèce au cours des différentes récoltes, les teneurs en amidon des cotylédons (Figure 14) sont similaires à celles observées sans interruption de la photosynthèse (Figure 12b). En ce qui concerne la quantité totale d'amidon dans les cotylédons, les différences observées entre ces deux expériences (Figure 12b et Figure 14) sont liées aux masses initiales des glands utilisés. Elles étaient plus hétérogènes et légèrement plus faibles dans la dernière expérience. Cependant, l'évolution générale des quantités totales d'amidon dans les cotylédons des semis ennoyés et des semis témoins ne sont pas modifiées lorsque l'on empêche les activités photosynthétiques des cotylédons.

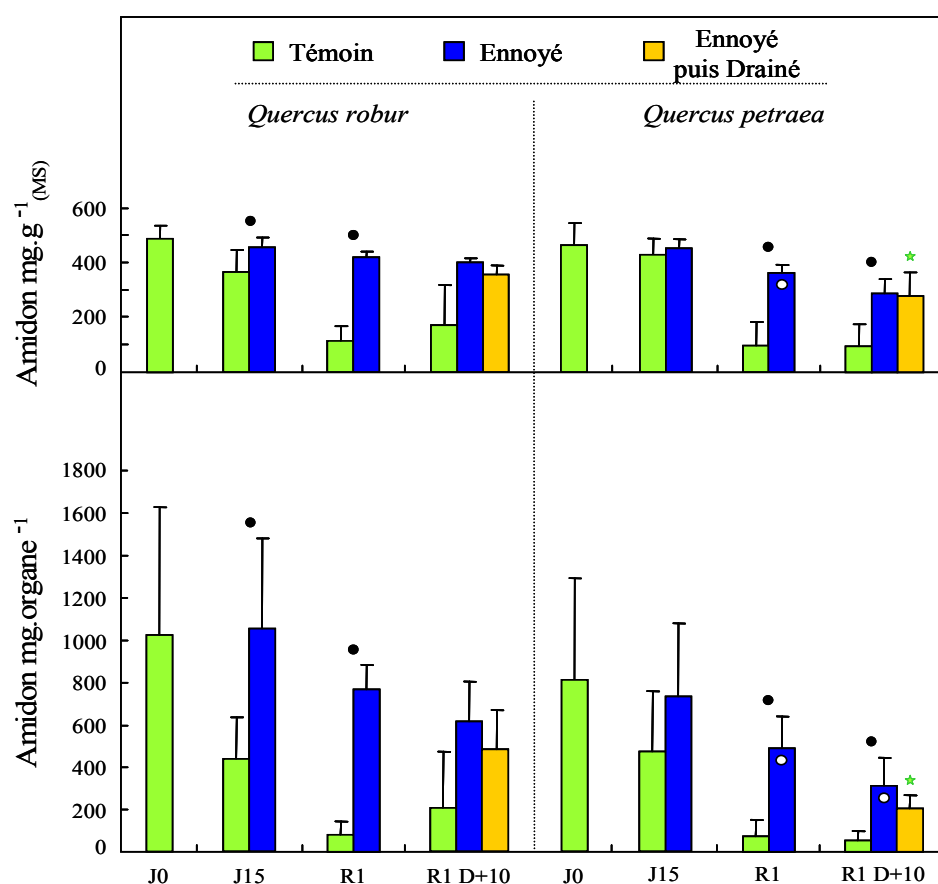


Figure 14. Variations des teneurs en amidon exprimées en équivalents glucose, en mg.g⁻¹ de matière sèche (MS), et des quantités totales d'amidon (équivalent glucose en mg.organe⁻¹) dans les cotylédons dont la photosynthèse est empêchée (cotylédons protégés de la lumière par du papier d'aluminium) des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J0, J15, R1 et R1 D+10. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis. Moyennes + erreurs standard.

VI.4.2 Teneurs en sucres solubles des cotylédons

En empêchant les activités photosynthétiques des cotylédons, il n'y a pas de réelles modifications des teneurs cotylédonaire en sucres réducteurs et en saccharose (Figure 15).

Quelques différences s'observent entre les semis témoins dont la photosynthèse cotylédonaire n'est pas entravée (Figure 13) et ceux dont elle est empêchée. Chez les semis témoins, lorsque la photosynthèse cotylédonaire est empêchée, chez *Q. robur* les teneurs en sucres réducteurs mesurées dans les cotylédons sont légèrement plus élevées et, chez *Q. petraea*, elles sont un peu plus faible (Figure 15). Chez les semis ennoyés, dans l'ensemble, les teneurs cotylédonaire en sucres réducteurs sont similaires pour les deux expériences (avec et sans arrêt de la photosynthèse). Globalement, les différences de teneur sont identiques entre les semis ennoyés et les semis témoins mais, chez les semis de *Q. petraea*, ces différences ne sont pas significatives (Figure 15).

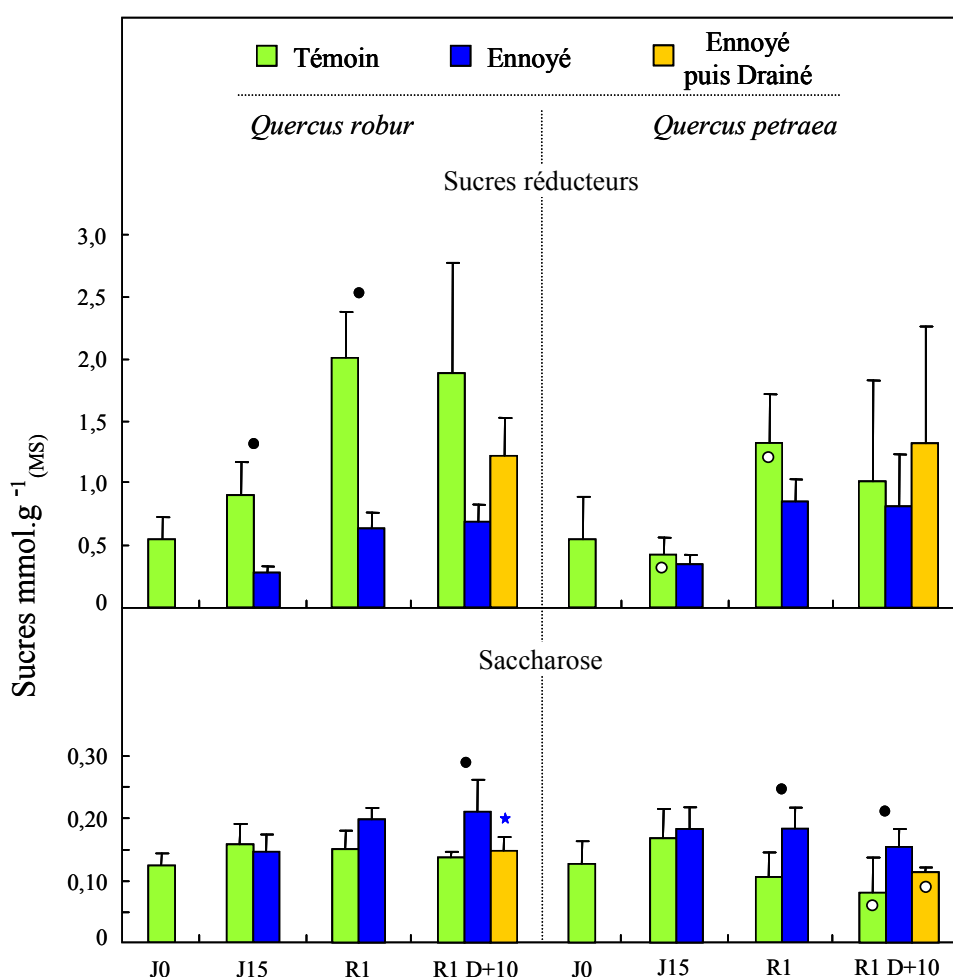


Figure 15. Variations des teneurs en sucres réducteurs et en saccharose, en mmol.g^{-1} de matière sèche (MS), des cotylédons dont la photosynthèse est empêchée (cotylédons protégés de la lumière par du papier d'aluminium) des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J0, J15, R1 et R1 D+10. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

● indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,

○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,

★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis. Moyennes + erreurs standard.

Lorsque l'on empêche les activités photosynthétiques des cotylédons, les teneurs cotylédonaire en saccharose des semis témoins des deux espèces restent relativement stables au cours de l'expérience (Figure 15), contrairement à ce qui était précédemment observé (Figure 13). Entre les semis témoins et les semis ennoyés, les différences de teneur en saccharose dans les cotylédons sont peu importantes. Cependant, les teneurs des semis ennoyés sont encore supérieures à celles des semis témoins, avec quelques différences significatives.

VI.5 Activités amylasiques des cotylédons

Les mesures d'activité enzymatique des amylases cotylédonaire (Figure 16) sont réalisées sur les cotylédons qui ont été également utilisés pour les mesures des teneurs en amidon (Figure 12b) et en sucres solubles (Figure 13).

VI.5.1 Activités amylasiques totales

Les semis témoins des deux espèces présentent la même évolution des activités amylasiques totales des cotylédons, mais celles des semis de *Q. petraea* sont légèrement plus élevées. On observe une seule différence significative entre les deux espèces, à la récolte R1 D+10. Il se produit au cours de l'expérience une augmentation progressive des activités amylasiques totales, avec un pic d'activité significatif après le développement du premier étage (récolte R1). Ensuite, ces activités enzymatiques diminuent progressivement et deviennent similaires aux activités initiales (Figure 16).

Les semis ennoyés des deux espèces présentent tout au long de l'expérience des activités amylasiques cotylédonaire similaires à celles des témoins (Figure 16). Les semis ennoyés de *Q. petraea* ont un pic d'activité légèrement supérieur à celui des semis ennoyés de *Q. robur*, mais sans aucune différence significative entre les deux espèces.

Le drainage des semis ennoyés n'a pas eu d'effets significatifs sur les activités amylasiques (Figure 16). Cependant, à la fin du développement du deuxième étage (récolte R2), les activités amylasiques cotylédonaire des semis drainés de *Q. robur* sont maintenues, alors que celles des semis drainés de *Q. petraea* deviennent nettement plus faibles. Les activités amylasiques cotylédonaire des semis drainés de *Q. robur* sont alors significativement plus élevées (4 fois plus) que celles des semis drainés de *Q. petraea*.

VI.5.2 Activité des α -amylases

Les activités des α -amylases cotylédonaire des deux espèces représentent une faible proportion des activités amylasiques totales. Au départ (récolte J0) elles représentent environ

10% des activités amylasiques totales, puis elles varient entre 4 et 30 % pour les autres récoltes (Figure 16).

Les activités des α -amylases cotylédonaire des semis témoins suivent à peu près la même évolution que les activités amylasiques totales. Après le développement du premier étage (récolte R1), les semis témoins de *Q. petraea* présentent un pic d'activité marqué alors que les semis témoins de *Q. robur* présentent un pic d'activité plus faible et décalé vers la récolte R1 D+10. Les activités α -amylasiques des semis témoins de *Q. petraea* sont légèrement supérieures à celles des semis témoins de *Q. robur*, avec une seule différence significative, observée à la récolte R1 (Figure 16).

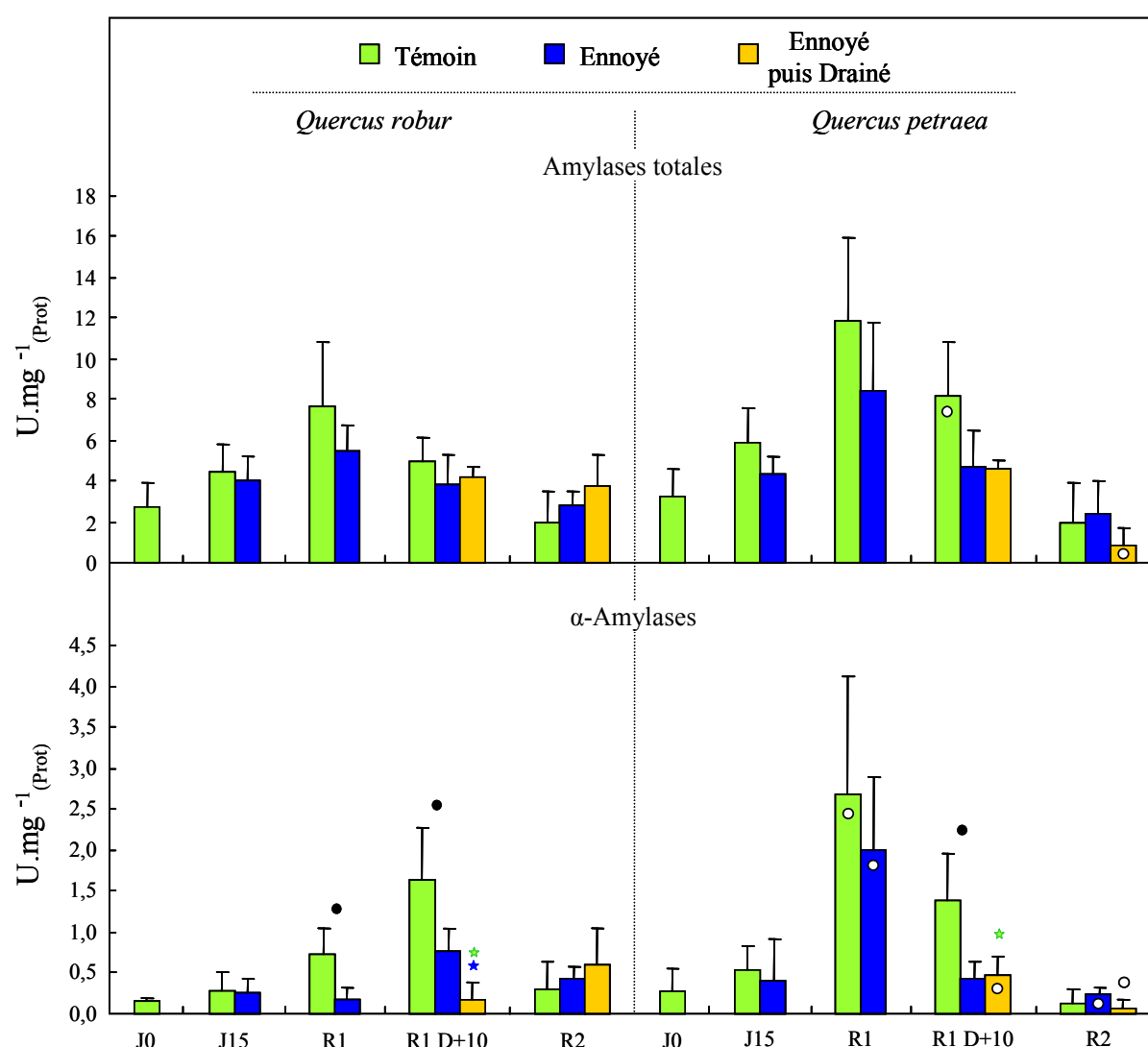


Figure 16. Variations des activités enzymatiques des amylases totales et des α -amylases en unité (U, une unité représente la quantité d'enzyme libérant 1 μ mol de sucre par min) par mg de protéine (Prot), des cotylédons des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J0, J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1. Ces mesures ont été effectuées sur les mêmes semis que ceux utilisés dans les Figure 12b et Figure 13.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis. Moyennes + erreurs standard.

En conditions d'ennoyage, les activités des α -amylases cotylédonaire des semis de *Q. robur* restent relativement faibles, avec un pic d'activité atténué par rapport aux témoins. Aux récoltes R1 et R1 D+10, les activités des semis ennoyés de *Q. robur* sont significativement réduites par rapport à celles des semis témoins. Par contre, les semis ennoyés de *Q. petraea* conservent des activités α -amylasiques relativement proches de celles des semis témoins, avec notamment à la récolte R1 un pic d'activité aussi élevé que chez les semis témoins. A cette récolte, l'activité est alors significativement supérieure à celle des semis de *Q. robur*. Cependant, à la récolte R1 D+10, l'activité des α -amylases des semis ennoyés de *Q. petraea* est significativement inhibée par rapport à celle des semis témoins.

Le drainage des semis ennoyés n'a pas eu d'impacts significatifs sur les activités α -amylasiques cotylédonaire (Figure 16). Après dix jours de drainage (récolte R1 D+10), les semis de *Q. robur* ont une activité α -amylasique très faible qui augmente après le développement du deuxième étage (récolte R2). Au contraire, l'activité α -amylasique des semis drainés de *Q. petraea* devient très faible à la fin de l'expérience. Ainsi, à la récolte R1 D+10, l'activité des α -amylases des semis drainés de *Q. robur* est significativement inférieure à celle des semis drainés de *Q. petraea*, alors qu'à la récolte R2 l'inverse est observé.

VI.6 Carbone Organique Total (COT)

L'analyse du Carbone Organique Total (COT, Tableau 6) a été effectuée uniquement sur les échantillons de la récolte R1 (après le développement du premier étage) des semis d'origine "Montbéliard", également utilisés pour l'analyse des réserves amylacées (Figure 8).

Les teneurs en COT des semis ennoyés et témoins des deux espèces représentent en moyenne 39% de la biomasse sèche quels que soient les organes considérés (résultats non présentés). Les résultats des teneurs en COT présentent donc un profil semblable à celui des masses sèches de la récolte R1 (Tableau 3a).

Les teneurs en COT des semis entiers (somme des différents organes sans les cotylédons) et celles calculées à partir des pertes cotylédonaire (différences entre les valeurs cotylédonaire initiales et celles de la récolte R1), permettent de faire un bilan intéressant sur le carbone incorporé dans les semis et le carbone cotylédonaire utilisé (Tableau 6). Les pertes cotylédonaire en carbone englobent aussi bien la partie de carbone perdu par respiration que celle exportée vers les semis. Quant au carbone incorporé dans les semis, il peut aussi bien provenir des cotylédons que de l'assimilation foliaire du CO₂.

Les semis témoins des deux espèces présentent des valeurs de COT similaires, aussi bien au niveau des semis entiers qu'au niveau des pertes cotylédonaire (Tableau 6). Ainsi, pendant le développement du premier étage, les semis témoins des deux espèces ont incorporé les mêmes quantités de carbone (COT des semis entiers) et avec une utilisation similaire du carbone des cotylédons (pertes cotylédonaire en COT). Les quantités de COT incorporées

dans les semis témoins de *Q. robur* et de *Q. petraea* sont respectivement 1,4 et 1,3 fois supérieures aux quantités cotylédonaire de COT perdues.

Tableau 6. Variations des teneurs en carbone organique total (COT, mg) accumulé par les semis entiers (sans les cotylédons) témoins (T) et ennoyés (E) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" à la période de repos apparent du premier étage (à la récolte R1), et pertes de COT des cotylédons au cours du développement du premier étage (différence de COT cotylédonaire entre les récoltes J0 et R1).

variables	<i>Quercus robur</i>		<i>Quercus petraea</i>	
	T	E	T	E
COT des semis entiers	663,2 ± 97,3	403,7 ± 46,8 *	612,4 ± 167,5	329,3 ± 96,2
pertes de COT cotylédonaire	480,0 ± 69,7	196,8 ± 18,2 *	455,5 ± 126,7	423,9 ± 53,6 ε
rapport $\frac{\text{semis entiers}}{\text{pertes cotylédonaire}}$	1,4	2,1	1,3	0,8

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les semis T et E d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

$p < 0,01$ test *U* de Mann-Whitney, $n = 5$. Moyennes ± erreurs standard.

En conditions d'ennoyage, le COT des semis entiers est réduit, ce qui est lié à la plus faible accumulation de biomasse. Les pertes cotylédonaire en COT des semis ennoyés de *Q. robur* sont particulièrement faibles, plus de deux fois inférieures à celles des semis témoins. Par contre, celles des semis ennoyés de *Q. petraea* sont aussi élevées que celles des témoins. Ainsi, en conditions d'ennoyage, on observe des résultats contrastés entre les semis de *Q. robur* et ceux de *Q. petraea*. Les semis ennoyés de *Q. petraea* montrent après le développement du premier étage un bilan carboné défavorable, avec des teneurs en COT incorporées plus faibles que les pertes cotylédonaire en COT (rapport de 0,8). En revanche, le COT incorporé dans les semis ennoyés de *Q. robur* dépasse largement les pertes cotylédonaire de COT, avec un rapport de 2,1 (Tableau 6).

VII. Discussion - II -

(II) Gestion des réserves glucidiques et importance des cotylédons

Une des principales questions qui se posent est de savoir comment les jeunes semis vont gérer leurs réserves glucidiques pour se développer et survivre au stress d'une part et constituer des réserves suffisantes pour assurer leur pérennité d'autre part.

Est-ce que la gestion des réserves glucidiques contribue à la différence de tolérance à l'ennoyage qui existe entre les deux espèces de chênes étudiées ?

VII.1 Réserves cotylédonaire et mobilisation des glucides

Les cotylédons sont la source de nutriments qui permet la transition de la phase hétérotrophique à la phase autotrophique des jeunes semis. En conditions naturelles, les semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* dépendent de leurs réserves cotylédonaire pendant la majeure partie de la première année de croissance (Brookes *et al.* 1980). Cependant, dès la mise en place des premières feuilles, les jeunes semis peuvent se passer de la présence des cotylédons (Sonesson 1994).

Dans des conditions optimales de croissance, 14 jours seulement après l'émergence de la tige, le taux de transfert des réserves cotylédonaire des semis de *Q. robur* peut correspondre à 80% de la biomasse et 73% de la teneur en azote (García-Cebrián *et al.* 2003). Au cours de nos expériences, le taux relatif de transfert des réserves cotylédonaire chez les semis témoins est plus élevé chez *Q. petraea* que chez *Q. robur*, notamment en ce qui concerne les réserves amylacées. L'ennoyage réduit la vitesse de mobilisation des réserves cotylédonaire. Les teneurs en amidon des cotylédons des semis ennoyés restent relativement élevées après le développement du premier étage, en particulier chez *Q. robur*. Alaoui-Sossé *et al.* (2005) avaient déjà observé chez les semis ennoyés de *Q. robur* une limitation de la diminution de la biomasse des cotylédons et de leurs teneurs en acides aminés. Dans le présent travail ce phénomène s'observe, dans une moindre mesure, également avec les semis de *Q. petraea*. Cependant, ces derniers montrent des réponses plus variables. Dans le cas des semis de *Q. petraea* d'origine "Montbéliard", la mobilisation des réserves cotylédonaire n'est quasiment pas entravée par l'ennoyage.

La mobilisation des réserves depuis les sources cotylédonaire est liée à la demande des puits des organes en croissance. Pendant l'ennoyage, la forte réduction des puits de croissance, notamment racinaire, pourrait rendre compte de la limitation de l'utilisation des réserves cotylédonaire. Cependant, les semis ennoyés de *Q. robur* d'origine "Montbéliard", qui ont une plus forte croissance que ceux de *Q. petraea*, présentent également une plus faible mobilisation des réserves cotylédonaire. Ainsi, le niveau d'utilisation des réserves des sources cotylédonaire ne peut pas être relié au taux de croissance des semis ennoyés.

La littérature qui traite de la mobilisation des réserves cotylédonaire glucidiques chez les semis des arbres est relativement peu abondante, notamment en combinaison avec un stress de type ennoyage. Les études les plus complètes sur la mobilisation des réserves cotylédonaire en conditions d'hypoxie concernent des espèces herbacées, notamment céréalières comme le riz, l'orge, le blé, le maïs. Chez ces espèces, à la différence des chênes, en conditions d'ennoyage les plantules des espèces tolérantes à l'hypoxie montrent une stimulation de l'utilisation de leurs réserves cotylédonaire d'amidon, alors qu'elle est retardée chez les espèces plus sensibles (Guglielminetti *et al.* 1995b, Perata *et al.* 1997, Mustroph et Albrecht 2003). En conditions d'ennoyage, les rhizomes de *Acorus calamus*, une espèce tolérante, montrent également une forte mobilisation de ses réserves amylacées, ce qui n'est pas le cas des tubercules de pomme de terre, espèce plus sensible (Arpagaus et Braendle 2000). En conditions d'ennoyage, la meilleure croissance des semis de *Q. robur* comparée à celle des

semis de *Q. petraea* aurait pu s'expliquer de la même manière, par une plus forte mobilisation des réserves amylacées. Néanmoins, les résultats obtenus chez les semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* montrent que, chez les jeunes semis de chêne, la tolérance à l'ennoyage n'est pas associée aux taux de mobilisation des réserves amylacées des cotylédons.

Les voies de mobilisation des réserves cotylédonaire sont clairement perturbées en conditions d'ennoyage, mais le fait qu'il puisse subsister des teneurs en amidon très élevées en conditions d'ennoyage reste énigmatique. Ces premiers résultats ont conduit à tester deux nouvelles hypothèses : (i) est ce que la photosynthèse des cotylédons peut entraîner un renouvellement de l'amidon dans les cotylédons et (ii) est ce qu'il y a des modifications du fonctionnement des enzymes impliquées dans la mobilisation de l'amidon des cotylédons.

Importance de la photosynthèse cotylédonaire

La culture des semis où les cotylédons sont recouverts de papier d'aluminium permet d'empêcher les activités photosynthétiques cotylédonaire. Cette expérience a montré que la photosynthèse des cotylédons des semis témoins ou ennoyés des deux espèces est négligeable. La suppression de la photosynthèse cotylédonaire n'a d'effet ni sur la croissance des semis ni sur la mobilisation de leurs réserves cotylédonaire en amidon et en sucres solubles.

Mobilisation des glucides cotylédonaire

En conditions d'ennoyage, l'incapacité de certaines espèces à accéder à leurs réserves glucidiques présentes sous forme d'amidon proviendrait d'une inhibition des enzymes impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon. Les α -amylases des graines sont induites par les gibbérellines, via le gène *Amy1A*. Chez les espèces céréalières, les conditions d'anoxie inhibent la production des gibbérellines et/ou inhibent leur capacité d'induction des gènes *Amy1A*. Les α -amylases ne sont alors pas synthétisées et l'hydrolyse de l'amidon ne peut s'opérer (Loreti *et al.* 2003a). Cependant, chez les espèces plus tolérantes à l'ennoyage, les activités amylasiques sont maintenues grâce à l'expression d'autres isoformes des amylases et de l'amidon phosphorylase (Harada et Ishizawa 2003, Loreti *et al.* 2003c). L'expression des gènes de ces isoformes qui est déclenchée sous anoxie ne requière pas de gibbérellines (Loreti *et al.* 2003b) et dépendrait des teneurs en sucres solubles (Ho *et al.* 2001, Loreti *et al.* 2003c).

Les deux espèces de chêne étudiées montrent que les enzymes cotylédonaire impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon sont toujours présentes et actives pendant l'ennoyage, même si leurs activités sont plus faibles que celles des témoins. Par ailleurs, l'observation des taux de mobilisation des réserves amylacées des cotylédons (RMR) montre une bonne concordance avec les activités enzymatiques amylasiques. A la fin du développement du premier étage elles ont une plus forte activité. Celle-ci est plus réduite pendant l'ennoyage, en particulier chez les semis de *Q. robur*. Dans nos expériences, la germination est initiée avant le repiquage des semis et les cotylédons ne sont pas directement placés en conditions d'anoxie.

Seule la partie racinaire est ennoyée. Cependant, lorsque la germination est initiée avant l'application d'un stress hypoxique, les espèces céréalières sensibles à l'ennoyage présentent au cours du stress une forte réduction de la mobilisation de leurs réserves cotylédonaire (Mustroph et Albrecht 2003). Les semis de chêne montrent pour leur part une légère réduction des activités enzymatiques de l'hydrolyse de l'amidon cotylédonaire.

Chez les témoins, l'hydrolyse de l'amidon cotylédonaire se traduit par une augmentation des teneurs en sucres réducteurs et des teneurs en saccharose de plus en plus faibles. Il y a vraisemblablement une forte exportation du saccharose, qui serait supérieure à sa synthèse. En revanche, dans les cotylédons des semis ennoyés, on observe une accumulation du saccharose et les teneurs en sucres réducteurs restent faibles. Chez le riz en conditions d'anoxie, pendant les premiers jours de germination le métabolisme des sucres est essentiellement sous forme de dégradation. Puis, après l'induction des α -amylases, une augmentation des teneurs en glucose et en saccharose indique qu'il y a d'une part dégradation de l'amidon et d'autre part synthèse de saccharose (Guglielminetti *et al.* 1995a). L'évolution des teneurs en sucres solubles dans les cotylédons des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* indique qu'il y a toujours hydrolyse de l'amidon et synthèse du saccharose en conditions d'ennoyage. A l'opposé, dans les graines d'espèces céréalières sensibles à l'ennoyage, Guglielminetti *et al.* (1999) ont montré que les capacités de synthèse du saccharose sont réduites par des conditions d'anoxie. Les faibles teneurs en sucres réducteurs dans les cotylédons des semis des chênes ennoyés pourraient correspondre à une réduction de l'hydrolyse de l'amidon alors que la synthèse du saccharose n'y serait pas perturbée.

Chez les chênes témoins, la mobilisation des réserves amylacées est suivie de l'exportation des sucres vers les autres organes sous forme de saccharose. Cependant, dans les semis ennoyés, la synthèse du saccharose cotylédonaire semble plus importante que son exportation. Cette faible exportation du saccharose et son accumulation pourrait se traduire par une réduction de l'hydrolyse de l'amidon. En effet, les gènes dont l'expression est modulée par l'anoxie sont également sensibles aux teneurs en sucres (Koch *et al.* 2000). Une carence en sucre peut être perçue comme un signal régulant l'expression des gènes impliqués dans la dégradation de l'amidon. Chez le riz, les hexoses et le saccharose sont des répresseurs de la transcription de certains gènes (comme *Ramy3D*) codant pour des isoformes des α -amylases (Figure D-II.1). Lorsque les teneurs en sucres deviennent faibles, notamment sous anoxie, la dégradation de l'amidon est stimulée par ces isoformes (Ho *et al.* 2001, Loreti *et al.* 2003c). Chez les semis de chênes ennoyés, puisque l'hydrolyse de l'amidon n'est pas complètement inhibée et la synthèse du saccharose n'est pas interrompue, il semble assez probable que la faible utilisation des réserves glucidiques cotylédonaire résulte d'une inhibition de l'exportation du saccharose.

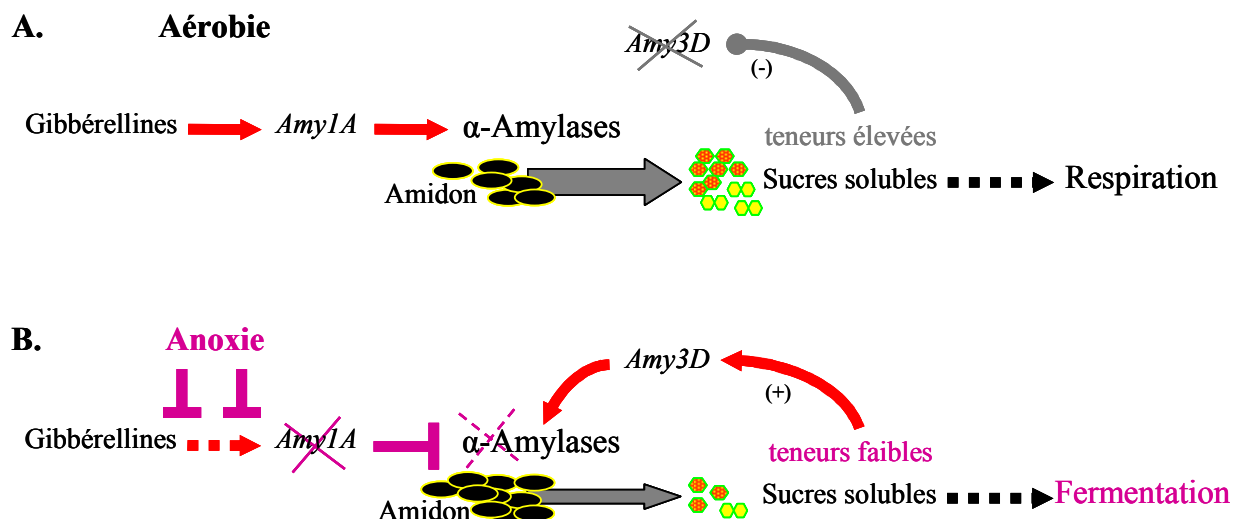


Figure D-II.1. Mécanisme de régulation des gènes *Amy1A* et *Amy3D* proposé par Loreti *et al.* (2003a) chez les grains de riz en conditions d'aérobie et d'anoxie.

A. En conditions d'aérobie, les gibbérellines peuvent être produites et entraîner l'expression du gène *Amy1A*. Les isoformes des α -amylases, *Amy1A*, permettent une hydrolyse rapide et efficace des réserves d'amidon. Les teneurs élevées en sucres solubles dans les grains en germination inhibent le gène *Amy3D*.

B. En conditions d'anoxie, le déficit en oxygène ne permet pas la production des gibbérellines et/ou réduit leur capacité d'induction du gène *Amy1A*. Il en résulte une pénurie en sucres, tant que l'hydrolyse de l'amidon est réduite. Les faibles teneurs en sucres dans les grains induisent l'expression du gène *Amy3D*, produisant des isoformes des α -amylases dont l'activité permettrait l'hydrolyse de l'amidon en sucres à des taux proches de leur utilisation dans les voies fermentaires.

L'ensemble des résultats obtenus sur la mobilisation des glucides cotylédonaire conduit, en conclusion, à proposer le scénario putatif suivant

Dans les cotylédons des chênes ennoyés il existe peut être, dans un premier temps, une inhibition de certains isoformes des amylases liée à l'hypoxie. Cependant, les mesures des activités amylasiques montrent que l'hydrolyse de l'amidon y est maintenue, éventuellement par la stimulation d'autres isoformes des amylases lorsqu'il y a une carence en sucres. Suite à l'hydrolyse de l'amidon, le saccharose est normalement synthétisé dans les cotylédons. Or, l'exportation du saccharose est limitée. Son accumulation dans les cotylédons finirait par inhiber l'activité des amylases (Figure D-II.2). L'hydrolyse de l'amidon se trouverait alors modulée selon le niveau d'exportation du saccharose. Les deux espèces étudiées diffèrent sur ce point, mais les raisons pour les quelles l'exportation des réserves cotylédonaire des semis de chêne est entravée par l'ennoyage ne sont pas élucidées. La faible exportation du saccharose cotylédonaire des semis ennoyés peut être liée d'une part directement à des différences de translocation des sucres, impliquant les processus de chargement-déchargement du phloème, et d'autre part à la faible demande en sucre des organes puits.

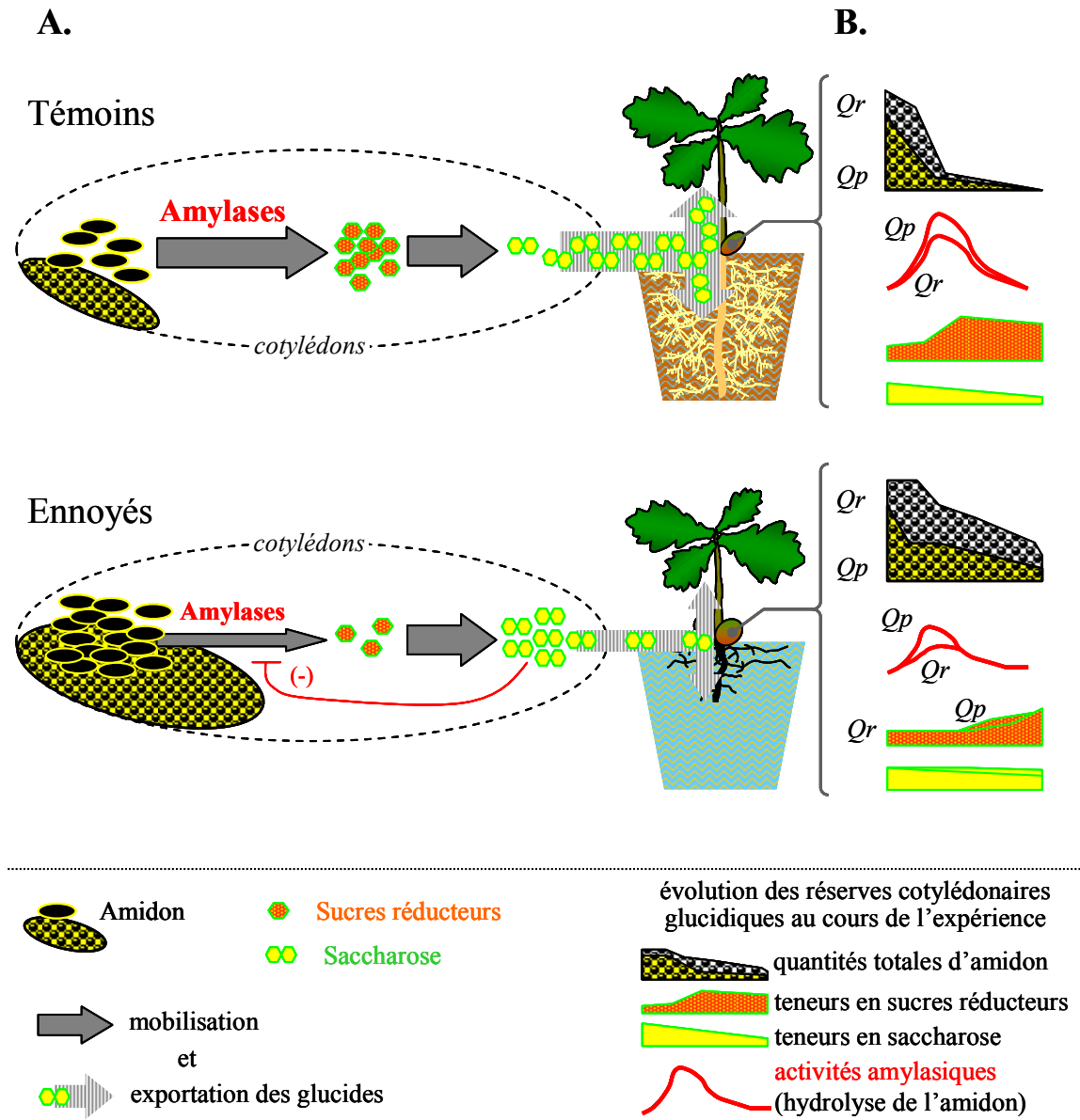


Figure D-II.2. Comportement putatif des cotylédons (A), basé sur la mesure des teneurs en réserves glucidiques et des activités amylasiques dans les cotylédons (B), des semis témoins et ennoyés. Chez les semis ennoyés, en particulier chez *Q. robur*, une faible exportation du saccharose des cotylédons pourrait être à l'origine d'une inhibition de l'hydrolyse de l'amidon. Lorsque les deux espèces présentent une évolution des réserves glucidiques différente (B), les résultats obtenus chez *Quercus robur* (Qr) et chez *Quercus petraea* (Qp) sont précisés.

Rôle des réserves cotylédonaire abondantes des chênes

L'étude de la mobilisation des réserves cotylédonaire des semis de chênes montre qu'une faible quantité d'amidon hydrolysée est suffisante pour le développement du premier étage et pour la survie des semis en conditions d'ennoyage, notamment chez *Q. robur*. Les espèces les plus sensibles à l'hypoxie épuisent rapidement leurs réserves en sucres solubles, mais elles ne sont pas, ou peu, capables d'utiliser leurs réserves d'amidon (Perata *et al.* 1992, Guglielminetti *et al.* 1995b, Arpagaus et Braendle 2000). Ceci conduit à une carence en sucres ne permettant plus aux plantes de subvenir à leurs besoins, notamment énergétiques, et

pouvant les mener à la mort (Perata *et al.* 1996). La transposition d'un tel mécanisme aux semis de chênes n'est pas pertinente. En conditions d'ennoyage, la plus forte mobilisation des réserves amylacées des cotylédons, observée chez *Q. petraea* d'origine "Montbéliard", n'a pas eu d'effets bénéfiques sur la croissance des semis. Chez les chênes, une forte mobilisation des réserves cotylédonaire en condition d'ennoyage n'apparaît pas comme un caractère de tolérance à l'hypoxie. De plus, la taille des réserves initiales, traduite par la taille des glands, n'apparaît pas indicatrice de la tolérance à l'ennoyage. Ces résultats sont en accord avec les observations de Long et Jones (1996).

Des réserves cotylédonaire abondantes sont néanmoins utiles pour la croissance et la survie des jeunes semis de chênes pendant la première année de développement. En effet, lorsque les semis subissent diverses conditions de stress, ou si la tige est supprimée, les réserves cotylédonaire sont importantes car elles contribuent au rétablissement de la croissance post-stress (Frost et Rydin 1997, Bonfil 1998, Kabeya et Sakai 2003). Au moment du drainage, les réserves cotylédonaire résiduelles des semis de *Q. robur* sont plus abondantes que celles des semis de *Q. petraea*. Ensuite, après le développement du deuxième étage, elles sont épuisées chez les deux espèces. La quantité d'amidon cotylédonaire hydrolysée après drainage est donc plus élevée chez les semis de *Q. robur*, ce qui constitue un apport glucidique plus conséquent pour soutenir la croissance post-hypoxique. La très forte capacité de croissance observée après drainage chez les semis ennoyés de *Q. robur* (§ V.3, p 93) peut être en partie liée à cette large disponibilité en sucres. En milieu naturel, ces paramètres peuvent conférer aux semis de *Q. robur* un avantage compétitif décisif sur les semis de *Q. petraea* dans leur établissement sur des stations hydromorphes à engorgement temporaire.

VII.2 Distribution des réserves amylacées dans les semis et teneurs en sucres solubles

Dès les premiers stades de la croissance juvénile, les semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* ont constitué d'importantes réserves glucidiques sous forme d'amidon. Les processus de mise en réserves des sucres semblent particulièrement actifs lors des premières années de croissance des semis. En effet, de telles réserves sont indispensables pour ces espèces pérennes. Elles permettent aux semis de survivre pendant la période hivernale (respiration de maintenance) et sont nécessaires à la reprise de la croissance au printemps suivant (avec notamment le développement de nouvelles feuilles). D'après les travaux de Barbaroux et Bréda (2002), les chênes sont des arbres nécessitant des réserves glucidiques particulièrement abondantes (par comparaison à *Fagus sylvatica*), notamment pendant la période hivernale. Dans nos expériences les mesures des teneurs en amidon montrent que, chez les jeunes semis de *Q. robur* et de *Q. petraea*, une très large part des réserves amylacées est stockée dans la racine pivot (jusqu'à 90%). Lors de l'établissement des deux premiers étages, Kabeya et Sakai (2003) ont également observé le même processus de stockage prépondérant dans la

racine pivot des semis de *Q. crispula*. Au cours de la croissance des semis, la part d'amidon stockée dans les tiges augmente progressivement. Chez les arbres adultes de *Q. petraea*, les réserves en sucres sont stockées essentiellement sous forme d'amidon, majoritairement dans les racines et dans les troncs (Barbaroux *et al.* 2003). On observe donc, au cours des premiers mois de croissance, la même stratégie d'accumulation des réserves glucidiques chez les semis témoins de *Q. robur* et de *Q. petraea*. La distribution des réserves d'amidon entre les différents organes sont identiques pour les deux espèces de chênes étudiés. Cependant, les réserves d'amidon que les semis de *Q. robur* constituent sont plus élevées que celles des semis de *Q. petraea*. Après le développement du deuxième étage, la différence d'accumulation totale d'amidon entre les deux espèces est déjà bien établie.

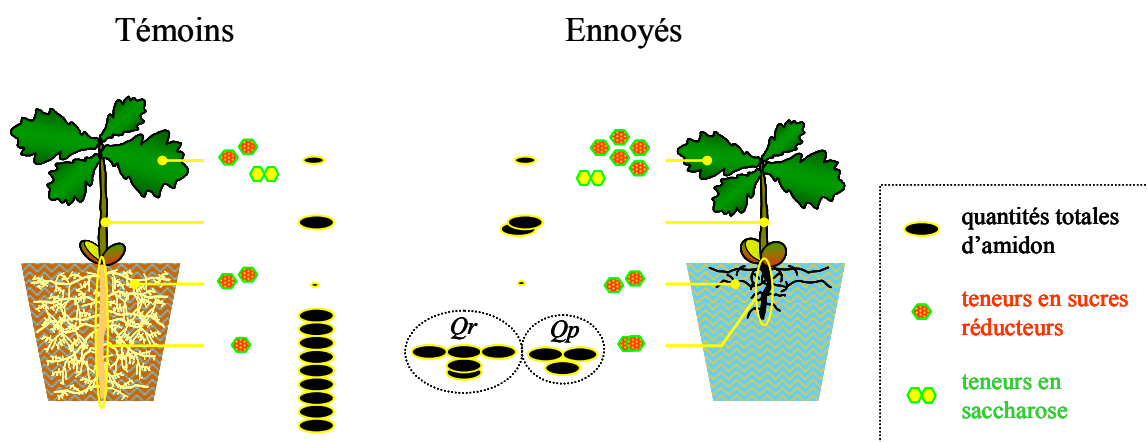


Figure D-II.3. Schéma synthétique des résultats obtenus sur la distribution des glucides dans les organes des semis témoins et ennoyés. Lorsque les deux espèces présentent un comportement différent, les résultats obtenus chez *Quercus robur* (Qr) et chez *Quercus petraea* (Qp) sont précisés.

L'ennoyage des semis des deux espèces entraîne une diminution de la quantité totale d'amidon stocké et des modifications de sa distribution entre les différents organes. Cependant, les processus de stockage de l'amidon ne sont pas inhibés. Les réserves amylacées des semis ennoyés des deux espèces augmentent significativement par rapport aux témoins, dans la tige du premier étage foliaire et dans les deux premiers cm du pivot, en continuité avec la tige. En conditions d'ennoyage, la réduction de la croissance, notamment racinaire, peut entraîner un excès de carbone disponible dans la zone proche de l'insertion des cotylédons (dans la tige du premier étage et dans la partie supérieure du pivot). Cet excès serait alors mis en réserve, sous forme d'amidon. Chez les chênes, lorsque la demande des puits diminue, le carbone assimilé est davantage mis en réserve dans les tissus de stockage, notamment sous forme d'amidon (Chapin 1991, Dickson *et al.* 2000b). La diminution du taux de croissance par l'ennoyage entraîne une baisse de l'activité des puits. Ainsi, les besoins en carbone pour la croissance sont réduits par l'ennoyage, en particulier au niveau des racines. Les sucres sont connus pour réguler l'expression des gènes impliqués dans les processus qui ont attiré au métabolisme glucidique. Une abondance en sucres solubles stimule les processus

d'utilisation des sucres (activité des puits) et/ou d'accumulation sous forme de réserves glucidiques (Koch 1996).

L'accumulation d'amidon chez les semis de chênes pourrait également témoigner d'une stimulation localisée de l'activité des puits de stockage, sans liens directs avec la disponibilité en sucres solubles. Les capacités de stockage des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* sont peu affectées par l'ennoyage. Il est probable que les processus d'accumulation des réserves amylacées soient constitutifs et d'origine endogène chez ces espèces ligneuses pérennes.

Dans les feuilles du premier étage des semis témoins, on observe une accumulation d'amidon à la fin du développement du premier étage. Ensuite, pendant le développement du deuxième étage, ces réserves sont largement mobilisées. Pendant le développement du deuxième étage une très large part du carbone assimilé par les feuilles du premier étage est allouée directement dans l'élaboration du deuxième étage (Dickson *et al.* 2000a). En général, les sources de carbone foliaire répondent aux besoins des puits de croissance qui sont les plus proches (racines / étage en développement), en suivant notamment le rythme de croissance de la partie aérienne (Dickson *et al.* 2000b). Ainsi, pendant la croissance des feuilles et des rameaux, les feuilles de la partie distale allouent la plus grande partie des produits de la photosynthèse vers le haut, tandis que les feuilles situées plus bas fournissent plus la partie inférieure de la tige et les racines. Les cotylédons qui sont encore présent lors de la deuxième vague de croissance peuvent aussi répondre à la demande des puits de croissance. Dans nos conditions expérimentales, après le développement du premier étage, les réserves foliaires en amidon sont vraisemblablement mises à contribution, en plus des produits de la photosynthèse, pour répondre à la demande des différents organes en croissance. Au cours du développement du deuxième étage de *Q. robur*, Alaoui-Sossé *et al.* (1994) et Alaoui-Sossé *et al.* (1996) n'ont pas observé de diminution des réserves amylacées des feuilles du premier étage. Dans ces expériences, la chute des teneurs en amidon dans les feuilles du premier étage avait lieu plus tardivement, pendant le développement du troisième étage. La diminution des réserves foliaires amylacées était alors interprétée comme le début de la sénescence des feuilles. Cependant, Alaoui-Sossé *et al.* (1994) et Dickson *et al.* (2000b) montrent que, pendant le développement du deuxième étage, le métabolisme des sucres (notamment du saccharose) mais également celui de l'amidon peut varier dans les feuilles du premier étage. Les feuilles du premier étage répondent ainsi aux variations de la demande des puits de croissance du deuxième étage en développement. Les différences observées avec les résultats de Alaoui-Sossé *et al.* (1994) dans la mobilisation des réserves amylacées des feuilles du premier étage pourraient s'expliquer par des conditions de culture différentes. En effet, ces auteurs ont cultivé les semis de chênes en conditions d'hydroponie, ce qui influencerait considérablement les taux de croissance des plantes et leur allocation carbonée.

En conditions d'ennoyage, l'évolution des réserves amylacées des feuilles des semis de *Q. robur* est similaire à celle des témoins. En revanche, à la fin du développement du premier étage (récolte R1, pendant le repos apparent) les semis ennoyés de *Q. petraea* n'ont pas constitué de réserves foliaires d'amidon comparables à celles observées chez les semis

témoins. Ceci pourrait être lié soit à une plus forte inhibition de la photosynthèse par rapport aux semis ennoyés de *Q. robur*, ou à une sénescence prématurée des feuilles du premier étage.

Dans les feuilles des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea*, les conditions d'ennoyage n'entraînent pas d'accumulation anormale (par rapport aux témoins) d'amidon ou de saccharose. De même, dans les feuilles des semis ennoyés de ces deux espèces, Parelle *et al.* (2006) n'ont pas observé d'accumulation d'amidon. De nombreuses espèces présentent en conditions d'ennoyage une accumulation d'amidon dans les feuilles, en particulier les espèces les plus sensibles (Liao et Lin 1994, Gravatt et Kirby 1998, Islam et Macdonald 2004, Kogawara *et al.* 2006). Si l'intensité de la photosynthèse dépasse les capacités d'exportation du saccharose, ce dernier s'accumule dans les feuilles. Il bloque l'efflux des trioses du chloroplaste qui sont alors transitoirement transformés en amidon (Guignard 2000). Dans le cas des semis de chêne, si la capacité d'exportation du saccharose foliaire est réduite en conditions d'ennoyage, celle-ci n'est pas annulée. Tout au moins, l'exportation du saccharose des feuilles reste supérieure à la quantité de saccharose produit par la photosynthèse. Ceci est corroboré par les résultats de Kreuzwieser *et al.* (2004) qui indiquent qu'une élévation de l'accumulation des sucres et de l'amidon dans les feuilles des arbres ennoyés serait une conséquence directe de la réduction de la translocation des métabolites (chargement-déchargement du phloème) des feuilles vers les organes en croissance (étage en formation, racines).

Dans les racines des semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea*, on observe des teneurs en sucres réducteurs comparables à celles des semis témoins, ce qui semble confirmer que l'exportation des sucres vers les racines n'est pas interrompue. Toutefois, ces sucres ne proviennent pas nécessairement des feuilles. La comparaison des semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* dans leurs utilisations respectives des réserves cotylédonaire laisse supposer un fonctionnement différent entre les deux espèces. Chez les semis ennoyés de *Q. robur*, les feuilles seraient les principales sources de carbone pour les racines alors que, chez les semis ennoyés de *Q. petraea*, les puits racinaires seraient approvisionnés en sucres essentiellement depuis les sources cotylédonaire.

L'approvisionnement des racines en sucres en quantité suffisante est indispensable en conditions d'ennoyage pour leur survie. Cette capacité est généralement considérée comme un marqueur majeur de la tolérance à l'hypoxie. Les espèces d'arbres capables de fournir abondamment leurs racines en sucres solubles pendant des conditions d'ennoyage présentent une meilleure tolérance à ce stress. C'est le cas de *Larix laricina* par rapport à *Picea Mariana* (Islam et Macdonald 2004) ou de *Melaleuca cajuputi* par rapport à *Eucalyptus camaldulensis* (Kogawara *et al.* 2006). Cette tendance s'observe aussi chez des espèces herbacées (Huang et Johnson 1995, Chen *et al.* 2005).

L'ennoyage des jeunes semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* ne semble donc pas entraîner une carence en sucres pendant les deux premières vagues de croissance. Cependant, les réserves cotylédonaire présentes pendant toute la durée de nos expériences ont certainement contribué à éviter une carence en sucres chez les semis ennoyés de *Q. petraea*. Lorsque les

semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* ne sont plus sous l'influence de leurs cotylédons, après seulement deux semaines d'ennoyage, les racines de *Q. petraea* semblent subir une carence glucidique plus prononcée que celles de *Q. robur* (Parelle *et al.* 2006).

En conditions d'ennoyage, chez les deux espèces étudiées, les feuilles montrent une accumulation des sucres réducteurs ou des sucres solubles totaux autres que le saccharose. Cette augmentation des teneurs en sucres dans les feuilles des semis de chênes ennoyés pourrait correspondre à un ajustement osmotique en réponse à une déshydratation foliaire. La dégradation du système racinaire qui s'observe en conditions d'ennoyage peut conduire à un déficit hydrique comparable à ce qui s'observe en cas de stress hydrique (García-Sánchez *et al.* 2007, § V.4, p 95). Chez les chênes ennoyés, des déficits hydriques ont souvent été observés (Dreyer 1994, Wagner et Dreyer 1997, McLeod *et al.* 1999, Schnull et Thomas 2000). Ce type d'ajustement osmotique dans les feuilles a par ailleurs déjà été observé chez le chêne en cas de stress hydrique (Epron et Dreyer 1996). Chez des espèces tropicales ennoyées, Rengifo *et al.* (2005) ont également observé une accumulation active de sucres dans les feuilles, ayant pour effet d'y augmenter la pression osmotique. Ce processus pourrait contribuer à la réouverture des stomates et à l'amélioration du taux d'assimilation nette du carbone de ces espèces (Rengifo *et al.* 2005).

Par ailleurs, en conditions d'ennoyage, le maintien d'une teneur relativement élevée en sucres dans les racines pourrait contribuer à maintenir un potentiel osmotique élevé assurant une certaine conductivité hydraulique racinaire. Ce type d'ajustement a été observé en conditions d'ennoyage chez *Larix laricina* (Islam et Macdonald 2004).

VII.3 Equilibre entre assimilation, consommation et stockage du carbone

Sous ennoyage, la demande des puits de croissance diminue fortement mais, simultanément, les besoins en carbone liés à la mise en place du métabolisme hypoxique augmentent. Quant à l'activité des puits de stockage, elle reste relativement élevée chez les semis ennoyés des deux espèces.

L'ennoyage induit des changements importants dans l'allocation de la biomasse et dans l'allocation carbonée, affectant les relations sources-puits des semis de chêne. Ces perturbations ont des répercussions sur le stockage et la distribution du carbone. Les schémas d'accumulation de l'amidon dans les semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* sont similaires. Chez les arbres exposés à des conditions d'ennoyage, une faible teneur foliaire en amidon accompagnée d'une accumulation d'amidon dans les tiges et plus particulièrement dans les racines, ainsi que le maintien de l'approvisionnement des racines en sucres solubles, sont des caractéristiques importantes de tolérance (Angelov *et al.* 1996, Gravatt et Kirby 1998, Islam et Macdonald 2004). Selon ces critères, les chênes étudiés, *Q. robur* et *Q. petraea*, présentent tous deux un comportement proche des espèces tolérantes à

l'ennoyage. Cependant, ces critères de tolérance ne permettent pas une discrimination suffisante entre ces deux espèces dans leurs tolérances respectives à l'ennoyage.

En conditions d'ennoyage, l'hydrolyse de l'amidon des cotylédons reste effective. De plus, au cours de nos expériences, au vu des teneurs en sucres solubles dans les racines, les semis ennoyés ne semblent pas subir de pénurie en glucide. Il est donc probable que le niveau d'utilisation des réserves cotylédonaire glucidiques des semis ennoyés réponde à leurs besoins respectifs en hydrates de carbone.

Une faible utilisation des réserves cotylédonaire pendant l'ennoyage, observée chez *Q. robur*, peut s'expliquer par la réduction de la croissance et une faible activité métabolique. Chez les semis ennoyés de *Q. petraea*, les effets de l'ennoyage sur la réduction de croissance et d'accumulation totale d'amidon sont plus draconiens que chez les semis de *Q. robur*. Les besoins glucidiques des semis de *Q. petraea* devraient donc être d'autant plus faibles, par comparaison à ceux de *Q. robur*. Pourtant, chez ces deux espèces, la mise à contribution des réserves cotylédonaire diffère de manière marquée : à l'inverse des semis de *Q. robur*, les semis ennoyés de *Q. petraea* montrent une forte mobilisation des réserves cotylédonaire. Il semblerait que l'ennoyage augmente fortement les besoins en glucides chez *Q. petraea*, mais pas chez *Q. robur*.

Les analyses des teneurs en carbone organique total (COT) ont été réalisées uniquement sur les semis d'origine "Montbéliard" et ne sont donc pas représentatives de l'ensemble des expériences. Néanmoins, ces analyses soulignent la divergence de gestion du carbone qui existe entre ces deux espèces lorsqu'elles sont exposées à des conditions d'ennoyage. Les semis ennoyés de *Q. petraea* montrent après le développement du premier étage un bilan carboné apparemment déficitaire. En effet, leurs teneurs en COT assimilées sont beaucoup plus faibles que leurs pertes cotylédonaire en COT. En revanche, chez les semis ennoyés de *Q. robur*, le COT assimilé dépasse largement les pertes cotylédonaire de COT. Ces résultats renforcent l'idée que, sous ennoyage, les semis de *Q. petraea* consomment des quantités de glucides plus importantes que les semis de *Q. robur*.

La gestion des hydrates de carbone diffère entre ces deux espèces lorsqu'elles sont soumises à des conditions d'ennoyage. Les taux d'assimilation global du CO₂ des semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* pourraient en partie rendre compte de ces différences. Une diminution de la photosynthèse entraînerait une mise à contribution plus élevée des réserves cotylédonaire.

Si l'on compare les semis ennoyés de *Q. robur* à leurs témoins, il semble cependant difficile d'expliquer la très faible utilisation de leurs réserves cotylédonaire uniquement par la réduction de croissance. De plus, dans cette comparaison (témoins / ennoyés), il est peu vraisemblable que les activités photosynthétiques suffisent à expliquer que les semis ennoyés s'affranchissent de leurs réserves cotylédonaire. D'autres facteurs peuvent intervenir (notamment d'ordre métabolique) afin d'économiser les réserves glucidiques. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées.

En ce qui concerne l'assimilation nette du CO₂, des études ont montré en l'absence d'ennoyage que les semis de *Q. robur* ont un taux d'assimilation net et des capacités photosynthétiques plus élevées que les semis de *Q. petraea* (Epron et Dreyer 1993, Wagner et Dreyer 1997). En conditions d'ennoyage, les performances photosynthétiques des deux chênes *Q. robur* et *Q. petraea* sont réduites (Dreyer *et al.* 1991, Wagner et Dreyer 1997). Outre l'accumulation d'amidon, l'accumulation de sucres solubles dans les feuilles est également connue pour avoir des effets inhibiteurs sur la photosynthèse (Foyer 1988). Dans la présente étude, la surface foliaire est réduite ce qui peut contribuer à affecter la capacité d'assimilation photosynthétique globale des semis, aussi bien chez *Q. robur* que chez *Q. petraea*. En revanche, le fait que *Q. petraea* n'ait pas constitué des réserves amylacées foliaires à la fin du développement du premier étage (récolte R1) pourrait témoigner d'une plus forte inhibition de la photosynthèse.

Le contrôle des réserves carbonées et celui du métabolisme énergétique sont connus pour jouer un rôle clé dans l'adaptation des plantes au stress anoxique (Greenway et Gibbs 2003, Fukao et Bailey-Serres 2004, Vartapetian 2005). La régulation des voies énergétiques, avec une réduction de l'énergie requise pour la maintenance, pourrait permettre une économie des substrats carbonés plus efficace chez les semis ennoyés de *Q. robur* par rapport à ceux de *Q. petraea*. Les activités enzymatiques liées au métabolisme carboné dans les racines ennoyées des semis de chênes, notamment la pyruvate décarboxylase (PDC) et l'alcool déshydrogénase (ADH), suggèrent effectivement des différences dans l'économie du carbone entre ces deux espèces (Parelle *et al.* 2006). En comparaison, les jeunes semis de riz, qui présentent par ailleurs une meilleure assimilation du carbone et une meilleure mobilisation de leurs réserves d'amidon que les espèces sensibles, réduiraient leurs demandes en sucres après quelques heures d'hypoxie ou d'anoxie en modifiant leur métabolisme et en entrant dans une forme de dormance (Mustroph et Albrecht 2003).

La répartition du carbone entre catabolisme-réserves-structure peut aussi intervenir dans les mécanismes de tolérance à l'ennoyage. En effet, Kogawara *et al.* (2006) ont montré que des arbres comme *Melaleuca cajuputi* sont capables en conditions d'ennoyage d'augmenter la part de photoassimilats fournie au métabolisme tout en réduisant sensiblement la part allouée au carbone structural, et cela sans affecter l'accumulation des réserves amylacées. Ces phénomènes ne sont pas observés chez *Eucalyptus camaldulensis*, une espèce légèrement moins tolérante à l'ennoyage que *Melaleuca cajuputi*. Ce processus permettrait d'améliorer le métabolisme racinaire hypoxique de *Melaleuca cajuputi* et d'y maintenir un état énergétique plus élevé que chez *Eucalyptus camaldulensis* (Yamanoshita *et al.* 2005, Kogawara *et al.* 2006).

L'économie des composés carbonés chez les arbres en conditions d'ennoyage peut aussi se réaliser grâce à une réutilisation des produits de la fermentation, améliorant ainsi le rendement du métabolisme carboné (Kreuzwieser *et al.* 2004). Pendant l'ennoyage, la fermentation alcoolique se met en place dans les racines des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea* (Parelle *et al.* 2006), et également de *Fagus sylvatica*, une espèce nettement plus sensible (Schmull et Thomas 2000). L'ennoyage entraîne une accumulation d'éthanol dans les racines qui est

significative uniquement chez *Fagus sylvatica* (Schmull et Thomas 2000). L'éthanol peut être transporté vers les feuilles où il peut y être oxydé en acétaldéhyde puis en acide acétique qui est converti en acétyl-CoA. Cet acétyl-CoA est alors réutilisable dans le métabolisme général (Kreuzwieser *et al.* 1999, Kreuzwieser *et al.* 2000, Kreuzwieser *et al.* 2001). Ce mécanisme serait plus efficace chez les espèces les plus tolérantes à l'ennoyage et a déjà été mis en évidence chez *Q. robur* en comparaison à *Fagus sylvatica* (Kreuzwieser *et al.* 2004). Les quantités de carbone délivrées aux feuilles via le flux xylémique chez *Q. robur* peut parfois dépasser l'assimilation du CO₂ lorsque la photosynthèse est réduite par des conditions d'ennoyage (Heizmann *et al.* 2001). Cependant, ces flux de carbone restent mal connus, notamment en conditions d'ennoyage où les transports phloémique et xylémique peuvent être modifiés.

VIII. Résultats - III -

(III) Nutrition azotée

VIII.1 Variations des teneurs en azote minéral dans le sol rhizosphérique

Les teneurs en azote du sol rhizosphérique qui sont présentées dans le Tableau 7a et le Tableau 7b correspondent aux résultats d'analyses de deux expériences. La première expérience était destinée aux mesures de l'activité de la glutamine synthétase (expérience GS) et la suivante aux mesures de l'activité de la nitrate réductase (expérience NR).

Le substrat de culture est identique pour les deux espèces. Dans l'ensemble, pour une condition de culture donnée, les variations des teneurs en azote minéral dans le sol rhizosphérique sont similaires chez les deux espèces, à quelques rares exceptions près. Les teneurs en azote des sols rhizosphériques des deux expériences sont parfois différentes mais, les variations de ces teneurs en azote montrent les mêmes tendances générales, notamment en ce qui concerne les effets de l'ennoyage. Dans l'ensemble, les résultats seront donc exposés de manière générale, excepté lorsqu'il y a des différences notables.

VIII.1.1 Evolution des teneurs en azote minéral dans le sol rhizosphérique témoin

Les teneurs en nitrate dans le sol rhizosphérique des semis témoins diminuent au cours de la croissance. A la fin des mesures (récolte R2), ces teneurs en nitrate deviennent relativement faibles, en particulier pendant l'expérience GS (Tableau 7a). En ce qui concerne le sol rhizosphérique des témoins, au cours des deux expériences les teneurs en ammonium montrent des valeurs différentes. Au cours de l'expérience GS (Tableau 7a), les teneurs en ammonium montrent des fluctuations importantes. Elles sont initialement de $156 \text{ nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$, elles deviennent nulles au cours de la culture et, à la dernière récolte, elles sont proches des teneurs initiales. Au cours de l'expérience NR (Tableau 7b), les sols sont initialement dépourvus d'ammonium. Ensuite, les teneurs en ammonium augmentent pour atteindre environ $148 \text{ nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$ à la dernière récolte (R2). Dans tout les cas, les teneurs initiales en nitrate dans les sols rhizosphériques témoins sont nettement plus élevées que les teneurs en ammonium. Puis, à la fin des mesures, les teneurs en ammonium et en nitrate deviennent relativement proches.

Les teneurs en nitrite dans le sol rhizosphérique des semis témoins sont faibles, en particulier au cours de l'expérience GS. Dans cette expérience elles restent stables au cours de la croissance des semis, avec une moyenne de $0,4 \text{ nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$ (Tableau 7a). Par contre, au cours de l'expérience NR les teneurs en nitrite montrent une forte augmentation, passant de $0,5$ à environ $6 \text{ nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$ (Tableau 7b).

VIII.1.2 Effets de l'ennoyage sur les teneurs en azote minéral dans la rhizosphère

L'ennoyage des substrats de culture est réalisé un à deux mois avant le repiquage des semis. Au moment de la transplantation des semis (récolte J0), les teneurs en azote minéral mesurées dans le sol ennoyé sont très différentes des teneurs initiales : les teneurs en nitrate sont environ 45 fois plus faibles alors que les teneurs en ammonium sont devenues beaucoup plus importantes.

Tableau 7. Variations des teneurs en azote minéral (NO_3^- , NH_3 et NO_2^-), en nmol.g^{-1} de matière sèche (MS), dans le substrat de culture des semis utilisés pour les mesures des activités enzymatiques de la glutamine synthétase (a. expérience GS) et de la nitrate réductase (b. expérience NR). Les teneurs en azote sont mesurées dans le substrat de culture au moment de la préparation des pots (récolte initiale), puis deux mois plus tard au moment de la transplantation des semis (récolte J0) dans les pots témoin (T) et ennoyés (E). Les teneurs en azote sont ensuite mesurées aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2 dans le sol rhizosphérique des semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF".

a. Expérience GS

Récoltes	Substrat des semis de <i>Quercus robur</i>			Substrat des semis de <i>Quercus petraea</i>		
	T	E	ED	T	E	ED
NO_3^- $\text{nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$						
initiale	1245 ± 86			1245 ± 86		
transplantation. J0	689 ± 552	25 ± 11 *		689 ± 552	25 ± 11 *	
J15	1189 ± 363	28 ± 7 *		639 ± 108 ε	31 ± 8 *	
R1	496 ± 166	31 ± 4 *		1033 ± 176 ε	24 ± 3 *ε	
R1 D+10	444 ± 245	25 ± 9	714 ± 146 × θ	599 ± 78	24 ± 6 *	693 ± 378 θ
R2	21 ± 11	25 ± 4	32 ± 32	112 ± 146 ε	22 ± 1 *	99 ± 109
NH_3 $\text{nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$						
initiale	156 ± 11			156 ± 11		
transplantation. J0	23 ± 16	388 ± 118 *		23 ± 16	388 ± 118 *	
J15	111 ± 70	891 ± 216 *		0 ± 0 ε	945 ± 298 *	
R1	0 ± 0	1417 ± 151 *		46 ± 14 ε	1471 ± 207 *	
R1 D+10	106 ± 15	1226 ± 342 *	738 ± 283 × θ	98 ± 19	1508 ± 466 *	534 ± 109 × θ
R2	129 ± 12	1909 ± 248 *	115 ± 6 θ	128 ± 18	2107 ± 216 *	105 ± 5 θ
NO_2^- $\text{nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$						
initiale	1,87 ± 0,26			1,87 ± 0,26		
transplantation. J0	0,50 ± 0,37	1,35 ± 1,38		0,50 ± 0,37	1,35 ± 1,38	
J15	0,25 ± 0,21	2,51 ± 1,17 *		0,21 ± 0,15	2,35 ± 0,59 *	
R1	0,24 ± 0,21	3,67 ± 0,47 *		0,38 ± 0,23	3,16 ± 0,48 *	
R1 D+10	0,50 ± 0,11	2,51 ± 0,48 *	5,06 ± 2,72 ×	0,81 ± 0,33	3,61 ± 0,94 *	7,84 ± 3,40 ×
R2	0,30 ± 0,09	1,44 ± 0,27 *	0,29 ± 0,09 θ	0,38 ± 0,17	1,99 ± 0,38 *	0,46 ± 0,33 θ

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les substrats T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les substrats T et ED d'une même espèce,

θ indique une différence significative entre les substrats E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre les substrats des deux espèces pour un même traitement.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$. Moyennes ± erreurs standard.

Les teneurs en nitrate dans le sol rhizosphérique des semis ennoyés sont drastiquement et significativement réduites par rapport aux témoins. Au cours de l'expérience GS, les teneurs en nitrate sont comprises entre 22 et 31 $\text{nmol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$ tout au long de la culture des semis ennoyés (Tableau 7a). Ces teneurs en nitrate sont plus faibles au cours de l'expérience NR,

avec fréquemment des valeurs à la limite de détection (Tableau 7b). A la fin de la culture, les teneurs en nitrate du sol rhizosphérique des semis témoins de *Q. robur* de l'expérience GS deviennent particulièrement faibles, ce qui n'est pas observé dans le sol rhizosphérique des autres semis témoins. Dans ce cas seulement, les teneurs en nitrate du sol rhizosphérique des semis témoins et envoyés de *Q. robur* deviennent similaires (Tableau 7a).

Tableau 7.

b. Expérience NR

Récoltes	Substrat des semis de <i>Quercus robur</i>			Substrat des semis de <i>Quercus petraea</i>		
	T	E	ED	T	E	ED
NO₃⁻ nmol.g⁻¹_(MS)						
initiale	1389 ± 111			1389 ± 111		
J0	1389 ± 235	32 ± 21 *		1389 ± 235	32 ± 21 *	
transplantation						
J15	1341 ± 99	0,0 ± 0,0 *		1335 ± 127	0,0 ± 0,0 *	
R1	1070 ± 277	0,0 ± 0,0 *		1198 ± 264	6,7 ± 4,1 * ε	
R1 D+10	386 ± 209	1,3 ± 2,5 *	571 ± 165 ø	487 ± 204	0,4 ± 0,8 *	504 ± 120 ø
R2	291 ± 267	0,8 ± 1,5 *	1,1 ± 1,2 ×	597 ± 470	0,0 ± 0,0 *	130 ± 202 ε ø
NH₃ nmol.g⁻¹_(MS)						
initiale	0,0 ± 0,0			0,0 ± 0,0		
J0	0,0 ± 0,0	1175 ± 395 *		0,0 ± 0,0	1175 ± 395 *	
transplantation						
J15	0,0 ± 0,0	799 ± 244 *		0,0 ± 0,0	727 ± 133 *	
R1	6,0 ± 6,3	853 ± 155 *		3,2 ± 5,2	691 ± 214 *	
R1 D+10	47 ± 12	1494 ± 254 *	193 ± 152 × ø	26 ± 18 ε	1170 ± 106 *	92 ± 84 × ø
R2	138 ± 19	1611 ± 439 *	57 ± 4,9 × ø	155 ± 18	2106 ± 265 *	135 ± 38 ε ø
NO₂⁻ nmol.g⁻¹_(MS)						
initiale	0,50 ± 0,18			0,50 ± 0,18		
J0	0,36 ± 0,15	1,28 ± 0,17 *		0,36 ± 0,15	1,28 ± 0,17 *	
transplantation						
J15	0,73 ± 0,24	1,67 ± 0,39 *		2,65 ± 0,72 ε	1,33 ± 0,46 *	
R1	1,02 ± 0,23	2,04 ± 0,45 *		0,95 ± 0,14	2,52 ± 0,68 *	
R1 D+10	4,61 ± 2,37	3,87 ± 0,89	7,79 ± 1,20 ø	4,44 ± 0,83	3,21 ± 0,96	7,36 ± 1,83 × ø
R2	5,21 ± 1,99	3,81 ± 0,47	1,35 ± 0,70 × ø	7,12 ± 2,59	3,32 ± 0,95	3,44 ± 1,19 ε

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les substrats T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les substrats T et ED d'une même espèce,

ø indique une différence significative entre les substrats E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre les substrats des deux espèces pour un même traitement.

p < 0,05 test U de Mann-Whitney, n = 5. Moyennes ± erreurs standard.

Les teneurs en ammonium dans le sol rhizosphérique des semis envoyés sont, à l'inverse des nitrates, fortement et significativement augmentées par rapport à celles des témoins. Dans le sol rhizosphérique des semis témoins, les plus fortes teneurs en ammonium relevées sont de 156 nmol.g⁻¹_(MS), (récolte initiale Tableau 7a), alors que dans le sol rhizosphérique des semis envoyés les plus faibles teneurs relevées sont déjà de 388 nmol.g⁻¹_(MS), (récolte J0 Tableau 7a). Au cours de l'expérience GS, les teneurs en ammonium dans le sol rhizosphérique des semis envoyés augmentent progressivement et peuvent atteindre jusqu'à 2107 nmol.g⁻¹_(MS). Celles de l'expérience NR sont très élevées dès le repiquage des semis

(1175 nmol.g⁻¹_(MS)) à la récolte J0, Tableau 7b) et montrent quelques fluctuations au cours de la croissance des semis, avec des valeurs comprises entre 691 et 2106 nmol.g⁻¹_(MS).

Les teneurs en nitrites restent relativement faibles dans le sol rhizosphérique des semis ennoyés, aux alentours de 2 à 3,5 nmol.g⁻¹_(MS). Dans l'ensemble, elles sont significativement plus élevées que celles des sols témoins, excepté à la fin de la culture de l'expérience NR.

VIII.1.3 Effets du drainage sur les teneurs en azote minéral dans la rhizosphère

Le drainage (après la récolte R1) des substrats ennoyés entraîne après une période de dix jours (récolte R1 D+10) des modifications significatives des teneurs en azote minéral (Tableau 7a et Tableau 7b). Dans les sols rhizosphériques drainés, les teneurs en nitrate augmentent et celles en ammonium diminuent par rapport aux teneurs correspondantes dans le sol rhizosphérique des semis maintenus ennoyés. Après seulement dix jours de drainage (récolte R1 D+10), les teneurs en nitrate deviennent proches de celles des témoins et, dans l'ensemble, elles le restent jusqu'à la fin de la culture (récolte R2). Les teneurs en ammonium deviennent similaires à celles des témoins uniquement à la fin de la culture (récolte R2). En ce qui concerne les teneurs en nitrite, après dix jours de drainage (récolte R1 D+10), elles augmentent significativement par rapport aux témoins et parfois également par rapport à celles des semis maintenus ennoyés. A la fin de la culture (récolte R2), dans les sols rhizosphériques des semis drainés les teneurs en nitrite redeviennent faibles (Tableau 7a et Tableau 7b).

VIII.2 Teneurs en nitrate dans les semis

Dans les feuilles

Les nitrates sont indétectables dans les feuilles ou proches du seuil de détection (inférieures à 0,5 µmol.g⁻¹_(MS)), quels que soient le traitement, l'espèce et l'étage foliaire (résultats non présentés).

Dans les racines pivots

Dans les racines pivots des semis témoins, les teneurs en nitrate sont similaires chez les deux espèces (Figure 17). Elles sont relativement élevées au début de la croissance (récolte J15) avec des teneurs de 9 et 6 µmol.g⁻¹_(MS) respectivement dans les pivots des semis de *Q. robur* et de *Q. petraea*. Ensuite, elles deviennent particulièrement faibles.

Les teneurs en nitrate dans les racines pivots des semis ennoyés sont similaires chez les deux espèces (excepté à la récolte R1 D+10). Elles sont faibles dès la première récolte (J15), avec des valeurs significativement réduites par rapport à celles des semis témoins. Ensuite,

après le développement du premier étage (récolte R1) et jusqu'à la fin de la culture (récolte R2), quelques différences significatives sont observées mais, globalement, les teneurs en nitrate dans les pivots des semis ennoyés des deux espèces sont aussi faibles que celles des semis témoins, avec dans l'ensemble des teneurs inférieures à $1 \mu\text{mol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$ (Figure 17).

Le drainage des semis ennoyés ne modifie pas les teneurs en nitrate dans les racines pivots. Les semis drainés de *Q. robur* montrent une augmentation après dix jours de drainage (récolte R1 D+10) mais qui n'est pas significative. Dans les autres cas les valeurs mesurées dans les racines pivots des semis drainés restent extrêmement faibles.

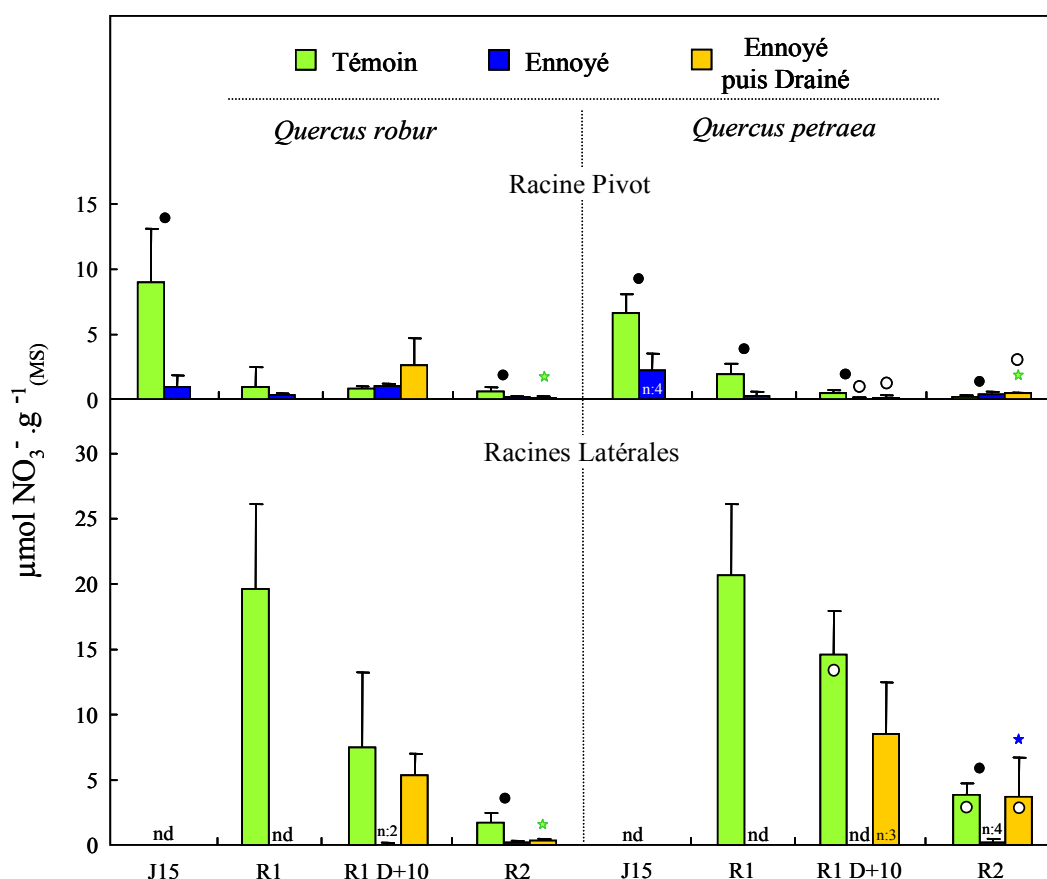


Figure 17. Variations des teneurs en nitrate, en $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de matière sèche (MS), dans la racine pivot et les racines latérales des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Dans les racines latérales

Dans les racines latérales des semis témoins des deux espèces, les teneurs en nitrates sont plus élevées que dans les pivots. Après le développement du premier étage (récolte R1) les teneurs en nitrate sont d'environ $20 \mu\text{mol.g}^{-1}_{(\text{MS})}$ dans les racines latérales des semis témoins

des deux espèces. Ensuite, elles diminuent progressivement au cours de la croissance du deuxième étage, en particulier chez *Q. robur*. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), les teneurs en nitrate dans les racines latérales des semis témoins de *Q. robur* et de *Q. petraea* sont respectivement 10 et 5 fois plus faibles que celles mesurées à la récolte R1. Dans les racines latérales des semis témoins de *Q. robur*, les teneurs en nitrate sont significativement plus faibles que celles des semis témoins de *Q. petraea*, excepté à la récolte R1 (Figure 17).

Les semis ennoyés ont des quantités de matière sèche de racines latérales très faibles. Les dosages des teneurs en nitrate n'ont pas pu y être réalisés pour chaque récolte, ce qui restreint les comparaisons avec les témoins. Les teneurs en nitrate sont très faibles dans les racines latérales des semis ennoyés des deux espèces, parfois inférieures à la limite de détection. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), elles sont significativement réduites par rapport à celles des semis témoins (Figure 17).

Le drainage des semis ennoyés se traduit par une augmentation des teneurs en nitrate dans les racines latérales des deux espèces. Elles sont similaires à celles des semis témoins respectifs après seulement dix jours de drainage (récolte R1 D+10). Cependant, après le développement du deuxième étage (récolte R2), celles des semis drainés de *Q. robur* redeviennent très faibles. A cette dernière récolte, les teneurs en nitrate dans les racines latérales des semis drainés de *Q. robur* sont significativement réduites par rapport à celles des semis témoins, et également par rapport à celles des semis drainés de *Q. petraea* (Figure 17).

VIII.3 Activités enzymatiques de la nitrate réductase (NR)

L'activité NR a été mesurée *in vivo*, d'une part sans ajout de nitrate exogène dans le milieu d'incubation (NR_{H2O}), ce qui correspond approximativement à l'activité *in situ* et, d'autre part, elle a été mesurée en présence d'un excès de nitrate (NR_{KNO3}), ce qui correspond à l'activité potentielle maximale.

Dans l'ensemble, pour un organe donné et au sein de chaque traitement, les activités NR des semis des deux espèces sont semblables (Tableau 8a et Tableau 8b). Les résultats sont donc exposés sans distinguer les deux espèces.

VIII.3.1 NR racinaire

Les activités NR_{H2O} racinaires des semis témoins diminuent au cours de la croissance (Tableau 8a). Après le développement du deuxième étage (récolte R2), les activités NR_{H2O} racinaires sont environ 7 fois plus faibles que celles mesurées à la première récolte (J15). Les activités NR_{H2O} racinaires des semis ennoyés ne montrent pas des variations aussi importantes que celles des semis témoins. Pendant le développement du premier étage, les activités NR_{H2O} racinaires des semis ennoyés sont plus faibles que celles des semis témoins. Cependant, la

seule différence significative s'observe à la première récolte (J15). Ensuite, pendant le développement du deuxième étage, les activités NR_{H_2O} racinaires des semis ennoyés deviennent supérieures à celles des semis témoins. Des valeurs significatives sont observées à la récolte R1 D+10 pour *Q. petraea* et à la récolte R2 pour *Q. robur* (Tableau 8a).

Les activités NR_{KNO_3} racinaires des semis témoins sont 2 à 4 fois plus fortes que les activités NR_{H_2O} racinaires. Elles sont également plus élevées pendant le développement du premier étage, mais elles montrent des variations marquées au cours de la croissance. Les activités NR_{KNO_3} racinaires des semis ennoyés sont 2 à 10 fois plus élevées que les activités NR_{H_2O} racinaires. Dans l'ensemble, les activités NR_{KNO_3} des semis ennoyés restent plus faibles que celles des témoins.

Le drainage des semis ennoyés n'entraîne pas de modifications claires des activités NR. Après dix jours de drainage (récolte R1 D+10), les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} racinaires sont relativement élevées, alors qu'après le développement du deuxième étage (récolte R2), elles sont plutôt faibles.

Les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} racinaires rapportées aux masses totales des racines latérales (par $plant^{-1}_{MF}$) représentent les activités NR totales à l'échelle des semis (Tableau 8a). Les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} racinaires totales des semis ennoyés sont plus faibles que celles des semis témoins, en particulier les activités NR_{KNO_3} qui sont significativement réduites tout au long de la croissance (excepté à la récolte R1).

VIII.3.2 NR foliaire

Dans les feuilles du premier étage

Dans l'ensemble, les activités NR_{H_2O} foliaires (Tableau 8b) sont plus faibles que les activités NR_{H_2O} racinaires (Tableau 8a). A l'inverse, les activités NR_{KNO_3} foliaires sont souvent plus élevées que les activités NR_{KNO_3} racinaires.

Les activités NR_{H_2O} foliaires du premier étage des semis témoins sont faibles et restent relativement stables au cours de la croissance. Dans l'ensemble, les activités NR_{H_2O} foliaires des semis ennoyés sont supérieures à celles des semis témoins. Les semis ennoyés de *Q. robur* présentent des différences significatives par rapport aux semis témoins aux récoltes R1 et R1 D+10. Quant aux semis ennoyés de *Q. petraea*, ils présentent des différences significatives par rapport aux semis témoins uniquement à la récolte R1 (Tableau 8b).

Les activités NR_{KNO_3} foliaires du premier étage des semis témoins sont élevées et elles augmentent fortement au cours de la croissance. Celles des semis ennoyés sont également élevées mais elles diminuent au cours de la croissance. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), les activités NR_{KNO_3} foliaires des semis ennoyés deviennent significativement plus faibles que celles des semis témoins.

Tableau 8. Activités de la nitrate réductase, en $\text{nmol NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1}$ de matière fraîche (MF) $\cdot \text{h}^{-1}$, dans les racines latérales (**a.** NR racinaire) et dans les feuilles (**b.** NR foliaire) sans ajout de NO_3^- ($\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$) et avec ajout de NO_3^- (NR_{KNO_3}) dans l'essai. Les activités NR sont mesurées dans les semis témoins (T), ennoyés (E) et ennoyés puis drainés (ED) de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Les activités NR racinaire et NR foliaire sont également exprimées par rapport à la masse fraîche totale des racines latérales et des feuilles de chaque semis ($\text{nmol NO}_2^- \cdot \text{plant}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1. Les activités NR foliaires ne sont pas mesurées à la récolte J15. Elles sont déterminées dans les feuilles du premier étage et, à la récolte R2, également dans les feuilles du deuxième étage (récolte étage 2 R2).

a. NR racinaire

Essais	Récoltes	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
		T	E	ED	T	E	ED
nmol (NO ₂ ⁻).g ⁻¹ _(MF) .h ⁻¹							
NR _{H2O}							
	J15	129 ± 45	47 ± 22 *		117 ± 26	33 ± 20 *	
	R1	nd	14 ± 18		106 ± 58	22 ± 27	
	R1 D+10	26 ± 23	80 ± 41	43 ± 12	38 ± 11	77 ± 26 *	126 ± 84 ε×
	R2	20 ± 14	46 ± 17 *	13 ± 16 ø	16 ± 9	31 ± 31	29 ± 16
NR _{KNO3}							
	J15	238 ± 87	86 ± 28 *		363 ± 143	76 ± 13 *	
	R1	432 ± 369	113 ± 57		72 ± 21	225 ± 381	
	R1 D+10	78 ± 25	170 ± 128	185 ± 75 ×	164 ± 93 ε	107 ± 8	256 ± 101 ø
	R2	166 ± 102	59 ± 17	18 ± 3 ×ø	270 ± 178	52 ± 37 *	90 ± 62
nmol (NO ₂ ⁻).plant ⁻¹ _(MF) .h ⁻¹							
NR _{H2O}							
	J15	39 ± 12	8 ± 1 *		37 ± 21	3 ± 3 *ε	
	R1	nd	3 ± 4		111 ± 63	9 ± 10	
	R1 D+10	57 ± 52	32 ± 17	40 ± 21	54 ± 12	22 ± 14 *	141 ± 207 ø
	R2	51 ± 47	42 ± 16	42 ± 46	25 ± 16	22 ± 15	24 ± 10
NR _{KNO3}							
	J15	71 ± 24	15 ± 6 *		97 ± 32	8 ± 8 *	
	R1	406 ± 253	26 ± 16		74 ± 30	57 ± 79	
	R1 D+10	162 ± 23	71 ± 47 *	161 ± 89	251 ± 151	28 ± 11 *	180 ± 145 ø
	R2	369 ± 180	54 ± 20 *	65 ± 17 ×	405 ± 227	44 ± 48 *	132 ± 88 ×

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les semis T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les semis T et ED d'une même espèce,

ø indique une différence significative entre les semis E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

$p < 0,05$ test *U* de Mann-Whitney, $n = 5$. Moyennes ± erreurs standard.

La proportion de l'activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ par rapport à la capacité NR maximale (NR_{KNO_3}) est nettement plus élevée dans les feuilles des semis ennoyés que dans celles des semis témoins.

Le drainage des semis ennoyés n'entraîne pas de modifications importantes des activités $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ foliaires. Elles restent similaires à celles des semis maintenus ennoyés, excepté chez les semis drainés de *Q. petraea* qui montrent des activités $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ foliaires significativement plus élevées dix jours après drainage (récolte R1 D+10). Par contre, les activités NR_{KNO_3} foliaires des semis drainés des deux espèces augmentent significativement par rapport à celles des semis maintenus ennoyés et, elles deviennent similaires à celles des semis témoins.

Tableau 8.

b. NR foliaire

Essais	Récoltes	<i>Quercus robur</i>			<i>Quercus petraea</i>		
		T	E	ED	T	E	ED
nmol (NO ₂ ⁻).g ⁻¹ _(MF) .h ⁻¹							
NR _{H2O}							
	R1	10 ± 7	22 ± 5 *		14 ± 10	33 ± 8 *ε	
	R1 D+10	8 ± 4	27 ± 11 *	24 ± 2 ×	16 ± 9	25 ± 13	42 ± 7 ×θε
	R2	12 ± 8	17 ± 9	21 ± 6	22 ± 5	24 ± 17	29 ± 8
	étage 2 R2	28 ± 7	33 ± 1	34 ± 4	37 ± 16	8 ± 8	30 ± 6
NR _{KNO3}							
	R1	193 ± 178	293 ± 128		105 ± 53	177 ± 57	
	R1 D+10	251 ± 130	174 ± 75	224 ± 94	179 ± 86	145 ± 30	221 ± 36 θ
	R2	410 ± 63	132 ± 22 *	312 ± 71 θ	309 ± 71	105 ± 68 *	375 ± 92 θ
	étage 2 R2	329 ± 96	320 ± 132	404 ± 84	393 ± 71	66 ± 66	325 ± 35
nmol (NO ₂ ⁻).plant ⁻¹ _(MF) .h ⁻¹							
NR _{H2O}							
	R1	14 ± 12	25 ± 10		16 ± 9	33 ± 11 *	
	R1 D+10	15 ± 5	29 ± 13 *	26 ± 7 ×	28 ± 20	20 ± 11	43 ± 17 θ
	R2	24 ± 12	16 ± 9	33 ± 11 θ	29 ± 14	18 ± 8	21 ± 13
	étage 2 R2	141 ± 39	17 ± 3	110 ± 23	129 ± 75	2 ± 2	58 ± 33
NR _{KNO3}							
	R1	289 ± 357	281 ± 55		161 ± 97	169 ± 63 ε	
	R1 D+10	421 ± 159	185 ± 81 *	243 ± 114	298 ± 165	142 ± 64	220 ± 54
	R2	813 ± 323	129 ± 28 *	482 ± 180 θ	439 ± 291	102 ± 85 *	264 ± 144 ε
	étage 2 R2	1602 ± 447	149 ± 33	1404 ± 589	1370 ± 646	20 ± 20	680 ± 472

Pour une récolte donnée, les symboles

* indique une différence significative entre les semis T et E d'une même espèce,

× indique une différence significative entre les semis T et ED d'une même espèce,

θ indique une différence significative entre les semis E et ED d'une même espèce,

ε indique une différence significative entre espèces d'un même traitement.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$. Moyennes ± erreurs standard.

Les activités NR_{H2O} foliaires totales (activités NR rapportées à la masse foliaire totale) du premier étage des semis témoins et des semis ennoyés sont proches. Elles restent peu élevées et relativement stables au cours de la croissance, avec parfois en conditions d'ennoyage des valeurs significativement plus élevées que celles des témoins (Tableau 8b).

Les activités NR_{KNO3} foliaires totales, exprimées par plant⁻¹, suivent au cours de la croissance la même évolution que les activités NR_{KNO3} foliaires exprimées par g⁻¹_{MS}, mais avec des différences plus importantes entre les semis témoins et ennoyés. Au cours du développement du deuxième étage, les activités NR_{KNO3} foliaires totales des semis ennoyés deviennent significativement réduites par rapport à celles des témoins, en particulier chez les semis de *Q. robur* (Tableau 8b).

Après le drainage des semis ennoyés des deux espèces, les activités NR_{H2O} foliaires totales ont tendance à augmenter. Elles présentent quelques différences significatives avec celles des semis maintenus ennoyés. Les activités NR_{KNO3} foliaires totales des semis drainés deviennent

supérieures à celles des semis maintenus ennoyés, mais elles restent inférieures à celles des semis témoins.

Dans les feuilles du deuxième étage

Dans les feuilles du deuxième étage (récolte nommée *étage 2 R2*), les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} des semis témoins sont relativement proches ou légèrement supérieures à celles mesurées dans leurs feuilles du premier étage (à la récolte R2). Les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} foliaires des semis ennoyés de *Q. robur* sont plus importantes dans les feuilles du deuxième étage. Par contre, les semis ennoyés de *Q. petraea* ont des activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} plus faibles dans les feuilles du deuxième étage, mais sans différence significative avec celles des semis témoins ni avec celles des semis ennoyés de *Q. robur* (Tableau 8b).

Après drainage des semis ennoyés, les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} foliaires du deuxième étage (récoltes *étage 2 R2*) sont similaires à celles des semis témoins (Tableau 8b).

Les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} foliaires totales du deuxième étage des semis témoins (récoltes *étage 2 R2*) sont nettement plus fortes que celles du premier étage. Par contre, chez les semis ennoyés de *Q. robur*, les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} foliaires totales sont similaires entre le premier et le deuxième étage. Chez les semis ennoyés de *Q. petraea*, elles sont plus faibles dans les feuilles du deuxième étage.

Après drainage des semis ennoyés des deux espèces, les activités NR_{H_2O} et NR_{KNO_3} des feuilles du deuxième étage (récoltes *étage 2 R2*) se rapprochent de celles des semis témoins, en particulier chez les semis de *Q. robur* (Tableau 8b).

VIII.4 Activités enzymatiques de la glutamine synthétase (GS)

VIII.4.1 GS foliaire

Les activités GS foliaires des semis témoins des deux espèces sont plus élevées que les activités GS racinaires. Les semis ennoyés de *Q. robur* présentent également des activités GS plus fortes dans les feuilles que dans les racines. Par contre, les semis ennoyés de *Q. petraea* ont des activités GS plus importantes dans les racines. Les activités GS foliaires des semis ennoyés de *Q. robur* sont similaires à celles des semis témoins. Elles sont proches de celles des semis ennoyés *Q. petraea*. Cependant, à la récolte R1 D+10, les activités GS foliaires des semis ennoyés de *Q. petraea* sont réduites, avec une différence significative par rapport aux témoins (Figure 18).

Après drainage des semis ennoyés de *Q. robur*, les activités GS foliaires restent similaires à celles des semis témoins et ennoyés. Les activités GS foliaires des semis drainés de

Q. petraea sont similaires à celles des semis témoins. Elles présentent à la récolte R1 D+10 une forte stimulation, significative, par rapport à celles des semis maintenus ennoyés.

Chez les semis ennoyés, les quantités de matière fraîche foliaire du deuxième étage étaient trop faibles pour y réaliser les mesures d'activité GS. Les activités GS foliaires du deuxième étage des semis témoins et des semis drainés des deux espèces sont similaires. La seule différence significative concerne les semis drainés de *Q. robur* dont les activités GS foliaires sont légèrement supérieures à celles des semis drainés de *Q. petraea* (Figure 18).

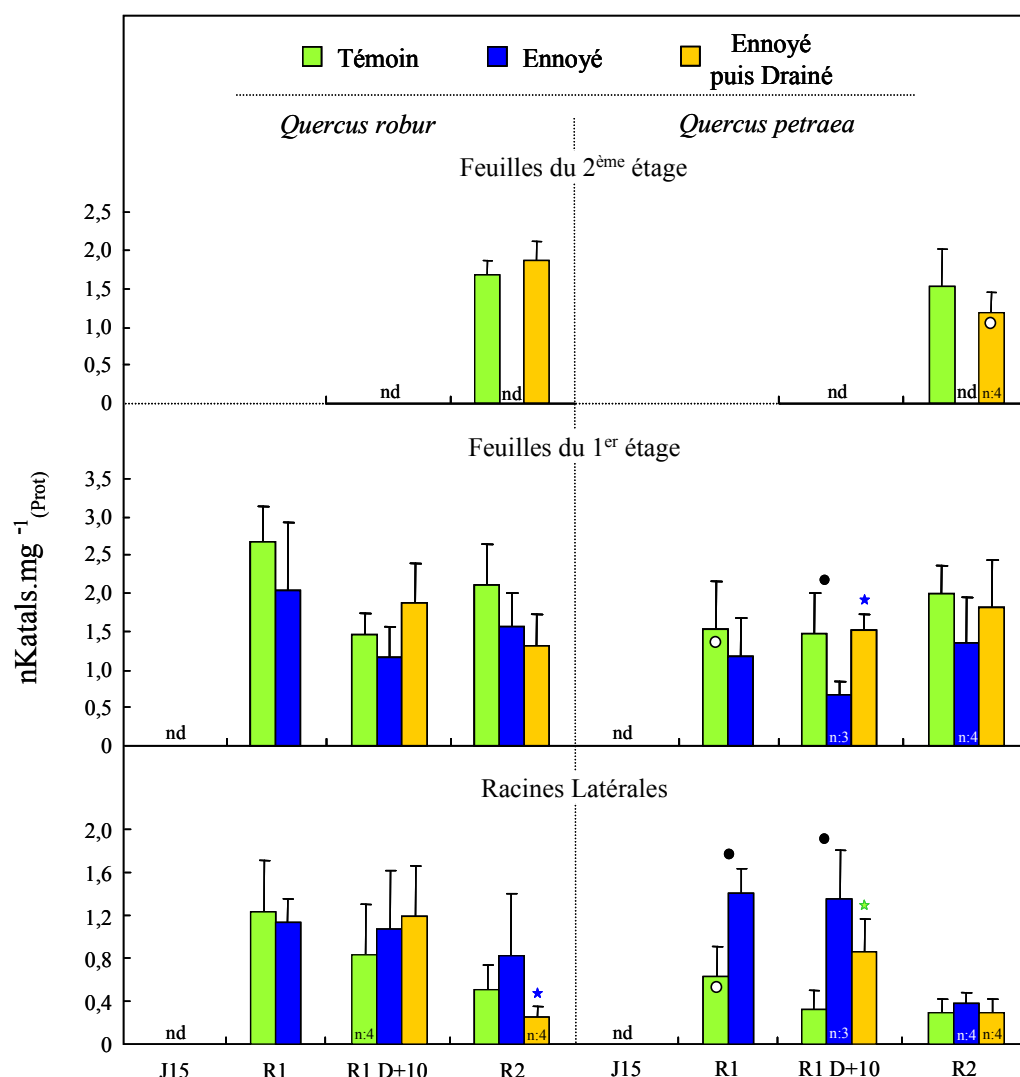


Figure 18. Activité de la glutamine synthétase, en nKats (nmoles de produit (γ -GH) formées par secondes) par mg de protéines (nKats.mg⁻¹_{Prot}), dans les feuilles du 1^{er} et du 2^{ème} étage et dans les racines latérales des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

VIII.4.2 GS racinaire

Les activités GS racinaires et foliaires des semis témoins de *Q. robur* sont en général plus élevées que celles des semis témoins de *Q. petraea*, mais présentent des différences significatives uniquement à la récolte R1 (Figure 18).

Les activités GS racinaires des semis témoins des deux espèces diminuent au cours de la croissance. Par contre les activités GS racinaires des semis ennoyés de *Q. robur* restent relativement stables au cours de la croissance. Elles ne présentent pas de différence significative avec celles des semis témoins. Les activités GS racinaires des semis ennoyés de *Q. petraea* sont significativement plus élevées que celles des semis témoins, excepté après le développement du deuxième étage (récolte R2). A cette dernière récolte, les activités GS racinaires des semis ennoyés diminuent nettement et elles deviennent similaires à celles des témoins. Les activités GS racinaires des semis ennoyés ne présentent pas de différence significative entre les deux espèces (Figure 18).

Après drainage des semis ennoyés de *Q. robur*, les activités GS racinaires sont similaires à celles des semis témoins. En fin de culture (récolte R2), elles diminuent significativement par rapport aux activités GS racinaires des semis maintenus ennoyés. Par contre, les activités GS racinaires des semis drainés de *Q. petraea* sont similaires à celles des semis maintenus ennoyés. Dix jours après drainage (récolte R1 D+10), elles sont donc significativement supérieures à celles des semis témoins (Figure 18).

VIII.5 Allocation azotée

VIII.5.1 Variations des teneurs en acides aminés

Dans les feuilles

Dans les feuilles du premier étage, les teneurs en acides aminés des semis témoins des deux espèces présentent une légère diminution au cours de la croissance. Celles des semis témoins de *Q. petraea* sont plus élevées que celles des semis témoins de *Q. robur*, mais sans qu'aucune différence significative ne soit observée (Figure 19a).

Les teneurs en acides aminés dans les feuilles du premier étage des semis ennoyés des deux espèces sont fortement et significativement réduites tout au long de l'expérience. A la récolte R1, elles sont environ 4 à 6 fois plus faibles que celles des semis témoins respectivement de *Q. robur* et de *Q. petraea*. Ensuite, à la récolte R2, elles sont environ 2 fois plus faibles que celles des semis témoins correspondants (Figure 19a).

Dans les feuilles du deuxième étage, les teneurs en acides aminés des semis témoins et ennoyés des deux espèces sont similaires (Figure 19a).

Après drainage des semis ennoyés, les teneurs en acides aminés foliaires des deux espèces restent similaires à celles des semis maintenus ennoyés. Dans les feuilles du premier étage elles sont significativement réduites par rapport à celles des témoins. Dans les feuilles du deuxième étage seules celles des semis drainés de *Q. robur* sont significativement plus faibles que celles des semis témoins (Figure 19a).

Dans la racine pivot

Les racines pivots sont les organes qui présentent les plus fortes teneurs en acides aminés. Elles sont relativement similaires entre les semis témoins des deux espèces mais elles présentent des variations au cours de la croissance. A la récolte J15, celles des semis témoins de *Q. robur* sont élevées puis, par la suite, elles sont plus faibles et restent stables (Figure 19a).

Les teneurs en acides aminés dans les racines pivots des semis ennoyés de *Q. robur* sont similaires à celles des semis témoins à la récolte J15. A la récolte R1, elles restent élevées et sont alors significativement plus fortes que celles des témoins. Ensuite, elles diminuent et, après le développement du deuxième étage (récolte R2), elles deviennent significativement plus faibles que celles des semis témoins. Les teneurs en acides aminés dans les pivots des semis ennoyés de *Q. petraea* diminuent tout au long de l'expérience. Ces teneurs restent similaires à celles des témoins, sauf à la fin de la culture (récolte R2) où elles deviennent significativement plus faibles. Les teneurs en acides aminés dans les pivots des semis ennoyés de *Q. petraea* sont également significativement plus faibles que celles des semis ennoyés de *Q. robur*, excepté à la récolte R2 (Figure 19a).

Après drainage des semis ennoyés, on observe à la récolte R1 D+10 une diminution significative des teneurs en acides aminés dans les racines pivots des deux espèces. Elle est plus prononcée avec les semis de *Q. petraea*. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), celles des semis drainés de *Q. robur* restent stables et significativement réduites par rapport aux témoins, alors que celles des semis drainés de *Q. petraea* augmentent et deviennent similaires à celles des témoins. A la récolte R1 D+10, les teneurs en acides aminés dans les racines pivots des semis drainés de *Q. robur* sont significativement plus élevées que celles des semis drainés de *Q. petraea*. Ensuite, à la récolte R2, celles des semis drainés de *Q. petraea* deviennent significativement plus élevées que celles des semis drainés de *Q. robur* (Figure 19a).

Dans les racines latérales

Dans les racines latérales, les teneurs en acides aminés restent stables au cours de la croissance des semis témoins et elles sont similaires chez les deux espèces (Figure 19a).

Dans les racines latérales des semis ennoyés, les teneurs en acides aminés sont similaires chez les deux espèces et, tout au long de la croissance, elles sont significativement plus élevées (deux à trois fois) que celles des racines latérales des semis témoins. Le drainage des

semis ennoyés entraîne une diminution des teneurs en acides aminés racinaires. A la récolte R2, dans les racines latérales des semis drainés des deux espèces, ces teneurs deviennent significativement plus faibles que celles des semis maintenus ennoyés. Celles des semis drainés de *Q. robur* deviennent même significativement plus faibles que celles des semis témoins (Figure 19a).

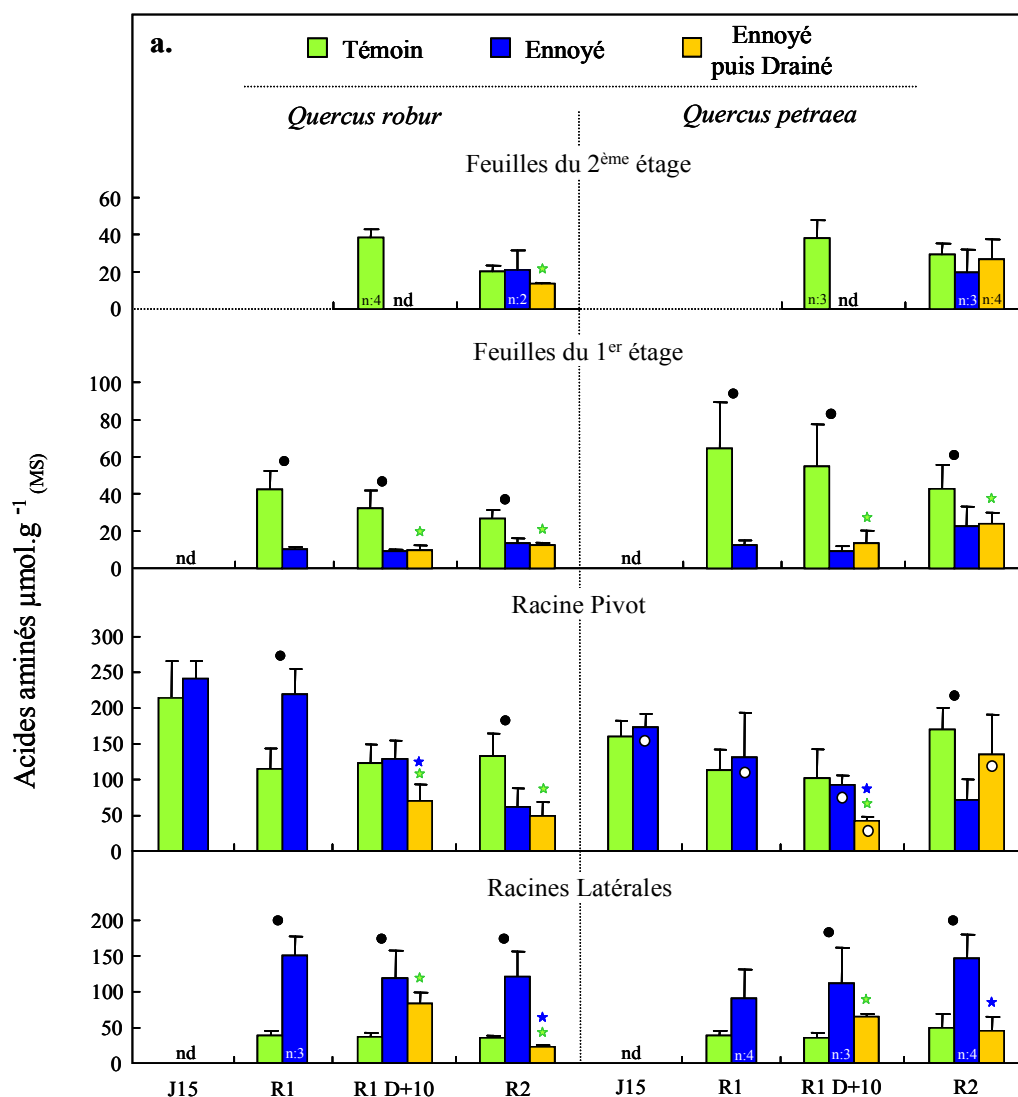


Figure 19. Variations des teneurs en acides aminés, en μmol.g⁻¹ de matière sèche (MS), dans les différents organes (a, feuilles du 1^{er} et du 2^{ème} étage et dans les racines pivot et latérales) et dans les cotylédons (b) des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ☆ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

Dans les cotylédons

Dans les cotylédons des semis témoins, les teneurs en acides aminés sont similaires chez les deux espèces (Figure 19b). Après quinze jours de croissance (récolte J15), elles restent similaires aux teneurs initiales (récolte J0). Après le développement du premier étage (récolte R1), les teneurs en acides aminés cotylédonaire des semis témoins de *Q. robur* et de *Q. petraea* diminuent respectivement des deux tiers et de la moitié. Ensuite, celles des semis de *Q. robur* restent stables jusqu'à la fin de la culture tandis que celles des semis de *Q. petraea* poursuivent leur diminution jusqu'à la récolte R2.

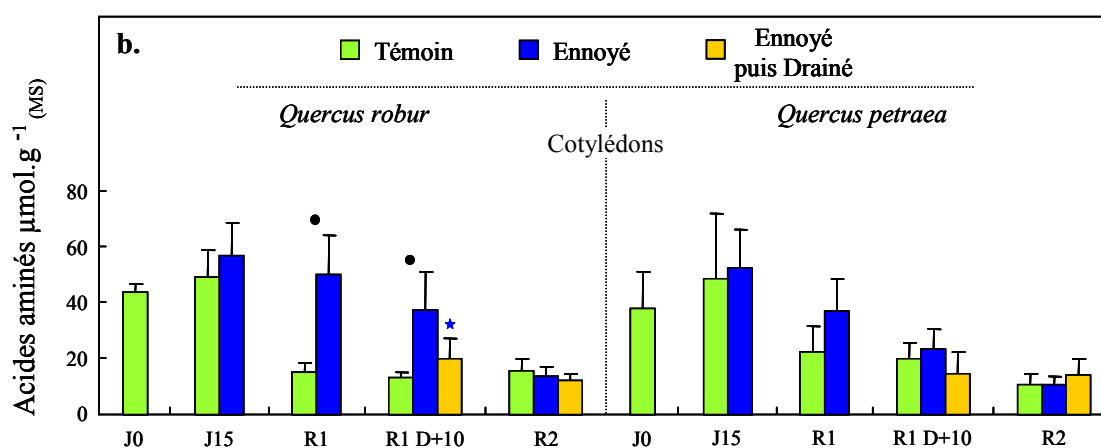


Figure 19 (b).

Les teneurs en acides aminés dans les cotylédons des semis ennoyés sont similaires chez les deux espèces. Elles montrent au cours de la croissance une diminution moins marquée que dans les cotylédons des semis témoins. Cependant, seuls les semis ennoyés de *Q. robur* présentent des teneurs en acides aminés cotylédonaire significativement plus élevées que celles des semis témoins. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), les teneurs en acides aminés cotylédonaire des semis témoins et ennoyés des deux espèces sont toutes devenues similaires (Figure 19b).

Après le drainage des semis ennoyés des deux espèces, les teneurs d'acides aminés cotylédonaire sont similaires à celles des témoins. Les cotylédons des semis drainés de *Q. robur* présentent après dix jours de drainage (récolte R1 D+10) une diminution significative de leurs teneurs en acides aminés par rapport à celles des semis maintenus ennoyés (Figure 19b).

VIII.5.2 Variations des teneurs en protéines

Dans les feuilles du premier étage

Dans l'ensemble, les teneurs en protéines des feuilles du premier étage sont environ deux fois plus élevées que celles des racines.

Les teneurs en protéines dans les feuilles du premier étage des semis témoins des deux espèces sont relativement stables au cours de la croissance. Chez les semis témoins de *Q. petraea* elles sont significativement plus élevées que celles des semis témoins de *Q. robur*, excepté à la récolte R2 (Figure 20).

Les teneurs en protéines des feuilles du premier étage des semis ennoyés des deux espèces sont similaires et, tout au long de la croissance, elles restent proches de celles des semis témoins. Aucune différence significative n'est détectée.

Après drainage des semis ennoyés de *Q. robur*, dans les feuilles du premier étage on observe à la récolte R1 D+10 une diminution significative des teneurs en protéines. Ensuite, à la récolte R2, elles deviennent similaires à celles des semis témoins et ennoyés. Le drainage des semis ennoyés de *Q. petraea* ne modifie pas les teneurs en protéines foliaires et, à la récolte R1 D+10, elles sont significativement plus élevées que celles des semis drainés de *Q. robur* (Figure 20).

Dans les feuilles du deuxième étage

Les teneurs en protéines foliaires du deuxième étage des semis témoins des deux espèces sont similaires. Par contre, chez les semis ennoyés les quantités de feuilles du deuxième étage étaient trop faibles pour y réaliser les mesures d'activité GS et, par conséquent, les teneurs en protéines n'y ont pas été déterminées (Figure 20).

Après drainage des semis ennoyés des deux espèces, les teneurs en protéines foliaires du deuxième étage restent similaires à celles des semis témoins.

Dans les racines

Dans les racines latérales des semis témoins de *Q. robur*, les teneurs en protéines restent relativement stables au cours de la croissance, alors que chez les semis témoins de *Q. petraea*, ces teneurs qui sont initialement plus élevées diminuent au cours de la croissance. Aux récoltes R1 et R1 D+10, les teneurs en protéines dans les racines latérales des semis témoins de *Q. petraea* sont significativement plus élevées que celles des semis témoins de *Q. robur* puis, à la récolte R2, elles deviennent similaires chez les deux espèces (Figure 20).

Les teneurs en protéines dans les racines latérales des semis ennoyés de *Q. robur* sont significativement plus élevées que celles des semis témoins aux récoltes R1 et R1 D+10, mais elles diminuent tout au long de l'expérience. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), elles deviennent similaires à celles des témoins. Les racines latérales des semis ennoyés de *Q. petraea* présentent à la récolte R1 des teneurs en protéines similaires à celles des semis témoins. Pendant la croissance du deuxième étage, ces teneurs restent relativement stables et, aux récoltes R1 D+10 et R2, elles sont significativement plus élevées que celles des semis témoins. Après le développement du deuxième étage (récolte R2), les teneurs en

protéines des racines latérales des semis ennoyés de *Q. petraea* sont alors significativement supérieures à celles des semis ennoyés de *Q. robur* (Figure 20).

Après drainage des semis ennoyés, chez les deux espèces, à la récolte R1 D+10 les teneurs en protéines des racines latérales restent similaires à celles des semis maintenus ennoyés. Ensuite, après le développement du deuxième étage (récolte R2), ces teneurs deviennent similaires à celles des témoins (Figure 20).

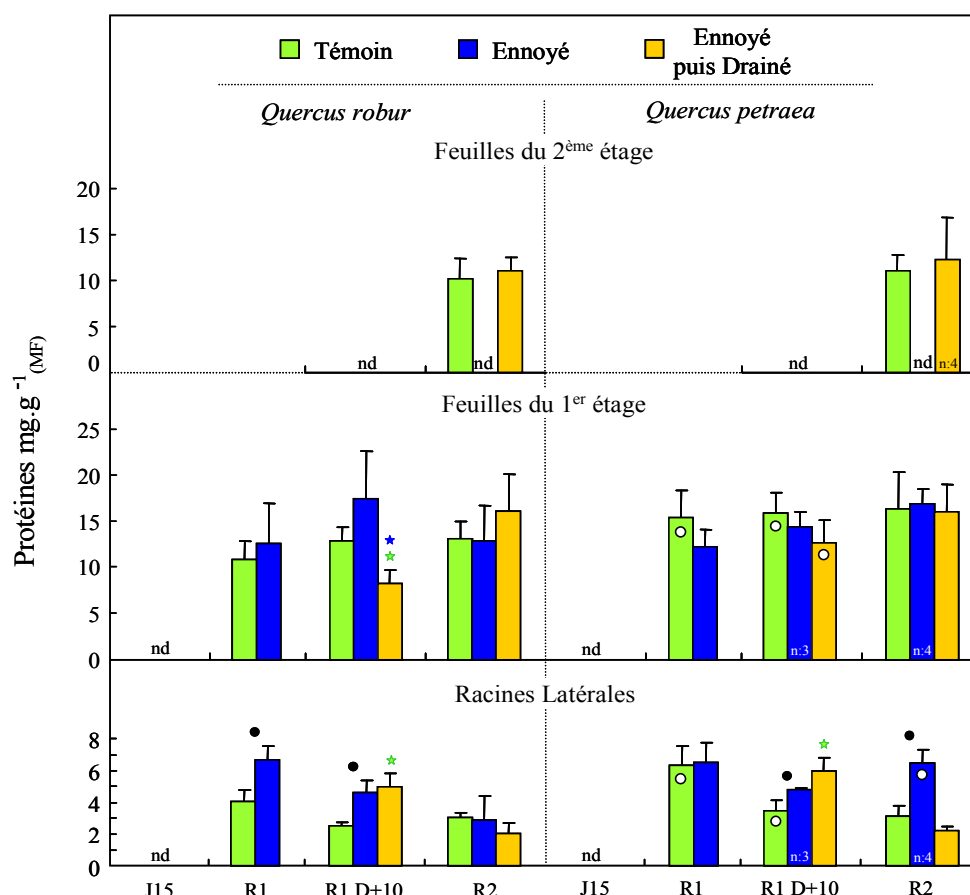


Figure 20. Variations des teneurs en protéines, en mg.g^{-1} de matière fraîche (MF), dans les feuilles du 1^{er} et du 2^{ème} étage et dans les racines latérales des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF" aux récoltes J15, R1, R1 D+10 et R2. Le drainage des semis ennoyés est effectué à la récolte R1.

Pour une récolte donnée, les symboles

- indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,
- indique une différence significative entre espèces d'un même traitement,
- ★ indique une différence significative entre les semis témoins et les semis ennoyés puis drainés,
- ★ indique une différence significative entre les semis maintenus ennoyés et les semis ennoyés puis drainés.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

VIII.5.3 Variations des teneurs en chlorophylles

Les teneurs en chlorophylles a et b ont été mesurées uniquement pendant la première expérience, avec les semis d'origine "Montbéliard" (Figure 21).

Les teneurs en chlorophylles a et b dans les feuilles du premier et du deuxième étage des semis témoins sont similaires chez les deux espèces, excepté à la récolte R2 dans les feuilles

du premier étage. Les teneurs en chlorophylles des feuilles du premier étage des semis témoins de *Q. robur* diminuent après le développement du deuxième étage (récolte R2), alors que celles des semis témoins de *Q. petraea* restent stables. A cette dernière récolte, dans les feuilles du premier étage, les semis témoins de *Q. robur* présentent des teneurs en chlorophylles significativement plus faibles que celles des semis témoins de *Q. petraea*. Pendant le développement du deuxième étage, les semis témoins des deux espèces présentent une augmentation des teneurs en chlorophylles dans leurs feuilles du deuxième étage (Figure 21).

Les teneurs en chlorophylles a et b des feuilles du premier étage des semis ennoyés sont similaires chez les deux espèces et, tout au long de l'expérience, elles sont significativement réduites par rapport à celles des témoins. En conditions d'ennoyage, les teneurs en chlorophylles sont approximativement réduites de moitié. Dans les feuilles du deuxième étage des semis ennoyés de *Q. robur*, les teneurs en chlorophylles sont également significativement réduites, excepté les chlorophylles b à la récolte R2. Dans cette expérience, les semis ennoyés de *Q. petraea* n'ont pas développé de deuxième étage (Figure 21).

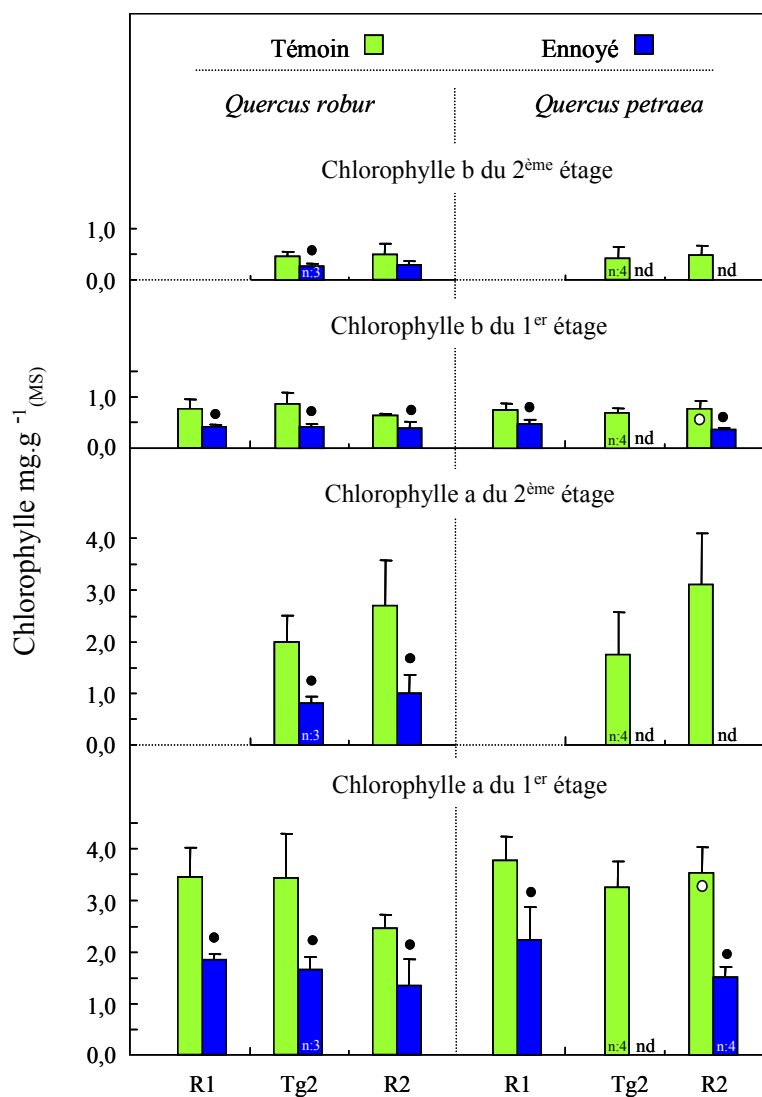


Figure 21. Variations des teneurs en chlorophylles a et b, en mg.g⁻¹ de matière sèche (MS), dans les feuilles du 1^{er} et du 2^{ème} étage des semis témoins, ennoyés et ennoyés puis drainés de *Quercus robur* et *Quercus petraea* d'origine "Montbéliard" aux récoltes R1, Tg2 et R2. Les semis ennoyés de *Q. petraea* n'ont pas développé de deuxième étage. A la récolte R2, ces semis sont toujours au stade de repos apparent du premier étage foliaire. Pour une récolte donnée, les symboles ● indique une différence significative entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce, ○ indique une différence significative entre espèces d'un même traitement. $p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard. nd = non déterminé.

VIII.5.4 Variations des teneurs en azote soluble et insoluble dans les différents organes

Les dosages d'azote total ont été effectués dans les différents organes des semis d'origine "ONF", uniquement après le développement du premier étage (récolte R1).

Les teneurs en azote soluble et en azote insoluble des différents organes des semis témoins sont similaires entre les deux espèces. Celles des semis ennoyés sont également similaires entre les deux espèces, à l'exception des teneurs en azote soluble des racines pivots des semis de *Q. robur* qui sont significativement plus élevées que celles des semis de *Q. petraea* (Figure 22).

Dans les cotylédons, les teneurs initiales en azote diminuent légèrement au cours de la croissance du premier étage. Elles sont similaires chez les semis témoins et les semis ennoyés. Dans les cotylédons des semis ennoyés de *Q. robur*, les teneurs en azote soluble sont plus élevées que celles des semis témoins, mais sans différence significative (Figure 22).

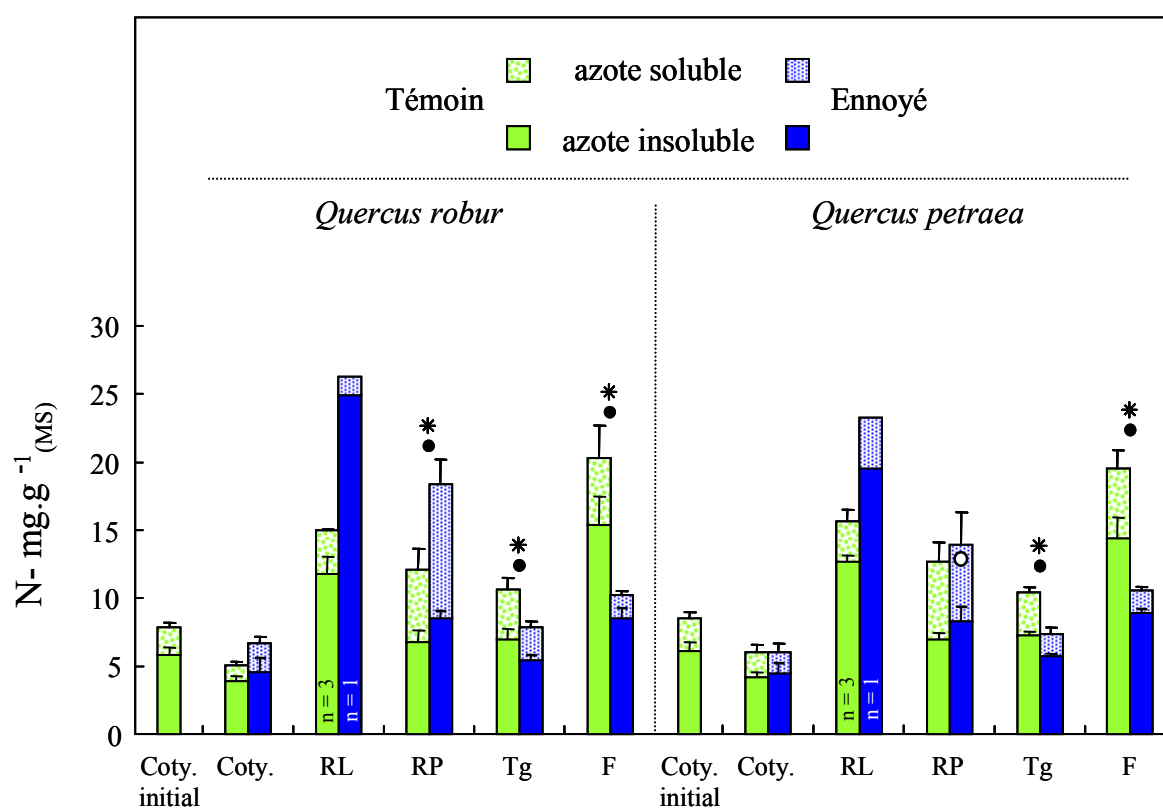


Figure 22. Variations des teneurs en azote total, azote soluble plus azote insoluble, en mg.g^{-1} de matière sèche (MS), dans les cotylédons au moment du repiquage (Coty. initial) et à la récolte R1 dans les cotylédons (Coty.), les racines latérales (RL), la racine pivot (RP), la tige (Tg) et les feuilles (F) des semis témoins et ennoyés de *Quercus robur* et de *Quercus petraea* d'origine "ONF".

Pour un organe donné, les symboles

* indique une différence significative des teneurs en azote soluble entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,

• indique une différence significative des teneurs en azote insoluble entre les semis témoins et ennoyés d'une même espèce,

○ indique une différence significative entre espèces.

$p < 0,05$ test U de Mann-Whitney, $n = 5$ semis excepté dans les cas où le nombre de répétitions (n) est précisé dans l'historique. Moyennes + erreurs standard.

Dans les racines latérales des semis ennoyés des deux espèces, les teneurs en azote soluble semblent augmenter, en particulier chez les semis de *Q. robur*. Cependant, la faible quantité de matériel disponible a restreint le nombre de répétitions, ce qui limite l'analyse statistique (Figure 22).

Les racines pivots des semis ennoyés de *Q. robur* présentent des teneurs en azote soluble et en azote insoluble significativement plus élevées que celles des semis témoins. On observe dans les racines pivots des semis ennoyés de *Q. robur* une légère augmentation des teneurs en azote insoluble, accompagnée d'une forte augmentation des teneurs en azote soluble. Ces dernières sont deux fois plus élevées que celles des semis témoins et que celles des semis ennoyés de *Q. petraea*. Dans les racines pivots des semis ennoyés de *Q. petraea*, les teneurs en azote soluble et en azote insoluble restent similaires à celles des semis témoins (Figure 22).

Dans les tiges des semis ennoyés des deux espèces, les teneurs en azote soluble et en azote insoluble sont significativement réduites par rapport à celles des semis témoins (Figure 22).

Dans les feuilles des semis ennoyés des deux espèces, les teneurs en azote sont fortement et significativement réduites par rapport à celles des semis témoins. Les teneurs en azote soluble dans les feuilles des semis ennoyés sont approximativement réduites des deux tiers et celles en azote insoluble d'environ un tiers par rapport aux témoins respectifs (Figure 22).

IX. Discussion - III -

(III) Nutrition azotée

On se demande quelles sont les répercussions des changements de la disponibilité des éléments minéraux azotés sur l'assimilation et l'allocation azotée des semis et notamment si les semis ennoyés peuvent compenser la disparition des nitrates par l'assimilation de l'ammonium.

Est-ce que, dans ces conditions, la nutrition azotée contribue à la différence de tolérance à l'ennoyage qui existe entre les deux espèces de chênes étudiées ?

IX.1 Modification de la disponibilité en azote dans la rhizosphère des semis ennoyés

Les mesures d'azote minéral dans la rhizosphère montrent que les teneurs en nitrates sont drastiquement diminuées par l'ennoyage. Dans des conditions expérimentales similaires, Alaoui-Sossé *et al.* (2005) ont observé que la teneur en nitrates diminue suivant un gradient de la surface vers le fond des pots de culture, et plus particulièrement au niveau de la rhizosphère. La perte d'azote minéral par dénitrification est un phénomène courant qui s'observe dès que la capacité au champ d'un sol est dépassée et, plus précisément, dès lors qu'il y a une chute du potentiel d'oxydoréduction (Oorschot *et al.* 2000). Le cycle de l'azote dans les sols est directement lié aux activités microbiennes. Les différentes formes d'azote minéral du sol résultent essentiellement du couplage entre les activités de nitrification et de dénitrification. Elles dépendent directement des métabolismes des bactéries telluriques qui sont majoritairement à anaérobie facultative (Bonneau et Souchier 1994, Gobat *et al.* 2003). L'équilibre entre nitrification et dénitrification est lié aux teneurs en oxygène. Dans le sol utilisé pour l'expérience de Alaoui-Sossé *et al.* (2005), des dénombrements des populations hétérotrophes dénitrifiantes montrent que les communautés bactériennes dénitrifiantes sont fortement représentées en conditions d'ennoyage, mais également en conditions témoin (Gérard 2003). Ces populations bactériennes présentent donc un métabolisme à anaérobie facultative, ce qui leur confère une grande capacité d'adaptation aux changements des teneurs en oxygène du milieu. De nombreuses communautés bactériennes du sol passent régulièrement du processus de nitrification à celui de la dénitrification en fonction des pressions partielles en oxygène, c'est par exemple le cas des bactéries du genre *Pseudomonas* qui sont très communes dans les sols (Bodelier *et al.* 1997).

Les résultats obtenus montrent également que la disparition du nitrate par l'ennoyage est accompagnée d'une légère augmentation des teneurs en nitrite et d'une forte accumulation d'ammonium. Dans la rhizosphère des semis ennoyés, l'azote accumulé sous la forme ammoniacale compense globalement les pertes sous forme nitrique. Une accumulation de NH_4^+ accompagnée de la disparition de NO_3^- en situation d'hypoxie du sol est un processus courant de dénitrification dissimilative (Pelmont 1993). A titre d'exemple, dans le sol de cultures de maïs, Ashraf et Rehman (1999) ont observé après 21 jours d'ennoyage des teneurs en NH_4^+ multipliées par 2 ou 3 et la quasi disparition des nitrates. Dans ces conditions, une part importante du NO_3^- est réduite en NH_4^+ , limitant les pertes azotées sous formes de gaz non assimilables par les plantes. Cependant, sous ennoyage, les processus de dénitrification peuvent parfois entraîner une perte d'azote importante sous forme de gaz tels que N_2O . Ces notamment le cas lorsque les sols sont initialement riches en nitrates (Xing *et al.* 2002). Le changement des formes azotées du NO_3^- au NH_4^+ , observé dans le présent travail, n'avait pas été observé dans l'expérience de Alaoui-Sossé *et al.* (2005) où les teneurs initiales en nitrates étaient 12 fois plus élevées que dans les présentes expériences.

Dix jours après le drainage des pots ennoyés, les teneurs en nitrates montrent une forte augmentation accompagnée d'une forte diminution des teneurs en ammonium. Ce phénomène

correspond à la réactivation des processus de minéralisation, à la stimulation des activités de nitrification et à l'arrêt ou au ralentissement des activités de dénitrification. La mesure du potentiel d'oxydoréduction après drainage montre que le retour à l'aérobiose est rapide. Les voies métaboliques bactériennes aérobies sont donc rapidement réactivées, avec des taux de minéralisation qui sont particulièrement élevés suite au drainage.

Le substrat de culture utilisé dans le présent travail est composé essentiellement de sol forestier. Il n'a subi que très peu de modifications et aucun apport azoté. De ce fait, dans nos conditions d'ennoyage en salle de culture, l'évolution des teneurs en azote minéral qu'on y observe devrait être relativement proche de ce qui peut s'observer en milieu forestier. Les résultats obtenus montrent un "transfert" d'azote du pool nitrique au pool ammoniacal selon que le sol est respectivement en conditions d'aérobiose ou d'ennoyage. L'ennoyage n'entraînerait donc pas une réelle carence azotée dans la rhizosphère des semis de chêne, mais plutôt un changement des formes d'azote minéral disponibles.

IX.2 Assimilation de l'azote par les semis

L'observation des teneurs en nitrates dans les racines des semis témoins montre qu'ils n'y sont pratiquement pas accumulés. L'accumulation des nitrates dans les racines des semis témoins diminue au cours de la croissance, en suivant la diminution de leur disponibilité dans la rhizosphère. Aucune accumulation de nitrate n'est détectable dans les feuilles, ce qui semble indiquer que tous les nitrates transportés vers les feuilles y sont immédiatement réduits. Les faibles teneurs en nitrates mesurées dans les racines et les feuilles des semis témoins des deux espèces concordent avec celles mesurées par Thomas et Hilker (2000) chez *Q. robur*. En conditions d'ennoyage, dans la rhizosphère les nitrates ont quasiment disparu mais dans les racines ils sont néanmoins détectables. Les semis de chêne poursuivent donc l'absorption des nitrates dans ces conditions. Ces résultats sont corroborés par ceux de Kreuzwieser *et al.* (2002) qui montrent chez *Q. robur* que, indépendamment des variations des teneurs en azote du substrat de culture, l'absorption des nitrates est réduite sous ennoyage mais reste active. Au cours du présent travail, les teneurs en nitrates restent cependant extrêmement faibles dans les racines des semis ennoyés, alors que les teneurs en acides aminés augmentent. Sous ennoyage, les nitrates absorbés seraient très rapidement assimilés et donc non accumulés. Quant à l'assimilation de l'ammonium, présent en excès dans la rhizosphère ennoyée, elle pourrait éventuellement contrebalancer la carence en azote nitrique. Chez des jeunes plants de *Q. robur*, la capacité d'absorption de l'ammonium, mesurée par l'utilisation d'engrais enrichie au N¹⁵, n'est pas perturbée en conditions d'ennoyage (Kreuzwieser *et al.* 2002). En revanche, ces auteurs observent chez *Fagus sylvatica*, espèce particulièrement sensible à l'hypoxie, que l'ennoyage réduit fortement l'absorption de l'azote minéral (NO₃⁻ et NH₄⁺).

L'activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ est plus importante dans les racines que dans les feuilles, alors que les feuilles présentent une capacité de réduction des nitrates (NR_{KNO_3}) élevée, en particulier les feuilles du deuxième étage. Ces résultats montrent d'une part que les nitrates sont préférentiellement réduits dans les racines et que, d'autre part, les feuilles ont un large potentiel de réduction des nitrates. Thomas et Hilker (2000) avaient fait les mêmes observations sur des jeunes semis de *Q. robur* âgés de quelques mois. Ces auteurs ont également montré que la différence de capacité de réduction des nitrates (NR_{KNO_3}) entre les feuilles et les racines s'atténue avec l'âge (chez des plants de 2 ans) mais que la réduction effective des nitrates ($\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$) se déroule majoritairement dans les racines.

Nous avons montré qu'au cours de la croissance des semis ennoyés, la NR racinaire a tendance à augmenter et, parallèlement, la NR foliaire a tendance à diminuer. On observe des tendances opposées chez les semis témoins. La répartition de l'activité d'assimilation du nitrate entre les parties racinaires et aériennes serait déterminée par l'activité de la NR racinaire et par le flux d'absorption des nitrates (Morot-Gaudry 1997). Les nitrates qui ne sont ni assimilés ni stockés dans les racines sont transportés par la sève xylémienne et sont assimilés dans les parties aériennes. Les semis de *Q. robur* ont une affinité relativement faible pour le nitrate et montrent une saturation de l'activité NR racinaire à des concentrations faibles (Thomas et Hilker 2000). Ceci peut en partie expliquer les faibles différences d'activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ racinaire observées dans le présent travail entre les semis témoins et ennoyés, malgré les différences d'accumulation des nitrates dans les racines.

Chez les semis témoins, la baisse d'activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ racinaire en fin d'expérience pourrait s'expliquer par la diminution des teneurs en nitrates observée dans la rhizosphère et dans les racines. La NR est une enzyme inductible par son substrat "activité et néosynthèse" (Morot-Gaudry 1997). En revanche, nos résultats montrent que sous ennoyage l'activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ ne semble pas être influencée par les teneurs en nitrates. Son activité est globalement maintenue et parfois stimulée, aussi bien chez *Q. robur* que chez *Q. petraea*. Chez ces mêmes espèces, Schmull et Thomas (2000) avaient également observé sous ennoyage une légère stimulation des activités NR racinaires. L'activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ des semis de chêne pourrait être directement stimulée par le déficit en oxygène engendré par les conditions d'ennoyage. L'hypoxie ou l'anoxie font partie des facteurs connus pour stimuler l'activité NR (Kaiser *et al.* 1999, Kaiser et Huber 2001). La stimulation de la NR racinaire sous ennoyage a été signalée chez différentes espèces, comme par exemple des espèces ligneuses des mangroves (Ye *et al.* 2003), des carex (Müller *et al.* 1994), ou encore des plants de tomate (Morard *et al.* 2004). A l'échelle des semis entiers, nos résultats montrent que cette stimulation se traduit par une activité $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}}$ racinaire totale comparable à celle des témoins et, cela, malgré la faible croissance racinaire. En revanche, la capacité NR racinaire rapportée à l'échelle du semis entier (NR_{KNO_3} totale) est nettement réduite par les conditions d'ennoyage.

Il est cependant intéressant de noter que, chez les deux espèces, le niveau d'activité NR par rapport à leur capacité de réduction ($\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}} / \text{NR}_{\text{KNO}_3}$) augmente sous ennoyage. Le rapport $\text{NR}_{\text{H}_2\text{O}} / \text{NR}_{\text{KNO}_3}$ pourrait refléter l'état d'activation post-transcriptionnelle de l'enzyme. Selon Kaiser *et al.* (2002), bien que les teneurs en nitrate soient l'un des principaux facteurs

externes ou internes contrôlant la synthèse de l'enzyme NR, elles n'auraient pas d'effets sur l'état d'activation de l'enzyme. Quant aux conditions d'hypoxie, elles peuvent stimuler l'activation des protéines NR (Botrel et Kaiser 1997, Kaiser et Huber 1997, de la Haba *et al.* 2001, Stoimenova *et al.* 2003). Cependant, seules des mesures d'activité *in vitro* de l'enzyme NR permettraient d'en évaluer l'état d'activation, ce qui n'a jamais été réalisé chez des ligneux ennoyés. Dans le présent travail, la baisse de la capacité enzymatique (NR_{KNO₃}) pourrait signifier que la synthèse protéique de la NR diminue sous ennoyage mais, au vu des activités NR_{H₂O}, les enzymes NR synthétisées seraient plus actives. L'activation des enzymes NR par un déficit en oxygène est en grande partie attribuée à une baisse du pH cytoplasmique (Botrel et Kaiser 1997, Kaiser *et al.* 1999, de la Haba *et al.* 2001, Kaiser *et al.* 2002). Toutefois, les mécanismes d'activation de l'enzyme NR apparaissent particulièrement complexes et ne sont que partiellement compris, notamment sous hypoxie.

Dans le présent travail, les fortes teneurs en ammonium observées dans la rhizosphère ennoyée ont pu avoir un impact sur les activités NR. Chez *Q. robur* en aérobiose, l'activité NR diminue lorsque l'ammonium est la seule source d'azote minéral (Thomas et Hilker 2000). De même, chez des *Carex*, en modifiant les formes d'azote disponibles dans la solution nutritive, Müller *et al.* (1994) observent en présence d'ammonium une diminution marquée de l'activité NR_{H₂O} racinaire et, cela, aussi bien sous aérobie que sous anoxie. Ainsi, dans nos conditions expérimentales d'ennoyage, la stimulation de l'activité NR_{H₂O} par le déficit en oxygène est probablement limitée par une inhibition liée à l'accumulation d'ammonium.

Dans nos expériences, chez les feuilles des semis ennoyés, à l'instar des racines, la capacité NR_{KNO₃} a tendance à diminuer, alors que l'activité NR_{H₂O} semble légèrement stimulée. Dans l'expérience de Alaoui-Sossé *et al.* (2005), les activités NR des semis ennoyés de *Q. robur* sont nettement inhibées dans les feuilles. Cependant, la méthode de mesure de l'activité NR est différente. De plus, dans l'expérience de Alaoui-Sossé *et al.* (2005), les teneurs en nitrates rhizosphériques disponibles pour les semis témoins étaient très élevées. Cela s'est traduit chez les semis témoins par une activité NR foliaire particulièrement forte, induisant des différences plus marquées avec les semis ennoyés. Quant à la diminution de la capacité NR_{KNO₃} dans les feuilles des semis ennoyés, elle pourrait être la conséquence d'une diminution de la synthèse de l'enzyme, elle même liée à une faible exportation des nitrates vers les feuilles.

Lors de l'ennoyage, la NR peut avoir un rôle bénéfique pour les semis. Sous hypoxie, l'activité NR pourrait diminuer les risques d'acidification du cytoplasme en agissant comme une pompe à protons et pourrait participer à la régénération du NAD⁺, indispensable pour le maintien de la glycolyse (Reggiani *et al.* 1993, Müller *et al.* 1994, Fan *et al.* 1997). Cette hypothèse reste néanmoins controversée (Stoimenova *et al.* 2003). La NR pourrait également jouer un rôle dans la tolérance à l'ennoyage de manière plus indirecte. La NR est à l'origine d'une production de NO à partir de NO₂⁻ (Rockel *et al.* 2002, Crawford 2006, Stöhr et Stremlau 2006). L'augmentation des teneurs en NO₂⁻ dans la rhizosphère ennoyée, qui est

observé dans le présent travail, peut favoriser cette production de NO comme proposé par Libourel *et al.* (2006). Ensuite, ce NO peut être ré-oxydé en NO_3^- par une hémoglobine non symbiotique, permettant la régénération de NAD^+ et la consommation de protons (Dordas *et al.* 2003a, Perazzolli *et al.* 2004, Igamberdiev et Hill 2004, Igamberdiev *et al.* 2005). En situation d'hypoxie, ce mécanisme serait une alternative efficace aux voies fermentaires pour le maintien de la glycolyse. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour comprendre la différence de tolérance à l'ennoyage qui existe entre *Q. robur* et *Q. petraea*. En effet, Parent *et al.* (2008) ont récemment mis en évidence que le gène *QpHb1* d'une hémoglobine non symbiotique est plus fortement exprimé, après quelques heures d'ennoyage, dans les racines des semis de *Q. robur* que dans celles des semis de *Q. petraea*.

La glutamine synthétase (GS)

En situation de carence en nitrates, les plantes augmentent généralement leur prélèvement en azote ammoniacal (Morot-Gaudry 1997). La GS utilise l'ammoniac qui provient soit de la réduction des nitrates ou bien directement de son absorption dans le sol. Dans le présent travail, en conditions d'ennoyage l'activité GS n'est pas significativement modifiée chez *Q. robur* alors qu'elle est nettement stimulée dans les racines de *Q. petraea*. Les semis de *Q. petraea* montrent pendant l'ennoyage une plus grande capacité que les semis de *Q. robur* à assimiler l'azote ammoniacal. Selon Morot-Gaudry (1997), la stimulation de la GS en conditions d'ennoyage peut être induite par les variations des teneurs en azote du sol. Chez le riz, l'activité de la GS racinaire est modulée selon les formes d'azote disponible. Elle est notamment stimulée par l'ammonium dont la présence induit l'expression d'un isoforme (Zhang *et al.* 1997). Dans les racines de la vigne, il existe également deux isogènes de la GS cytosolique qui sont différemment exprimés selon les apports exogènes en ammonium (Loulakakis et Roubelakis-Angelakis 1996). En revanche, (chez le riz) les teneurs en nitrates n'ont apparemment pas d'effet sur le niveau de transcription de la GS cytosolique (Mattana *et al.* 1996, Mattana *et al.* 1997). La stimulation de la GS en conditions d'ennoyage pourrait également être induite par la chute des teneurs en oxygène. En effet, la stimulation de la GS racinaire a déjà pu être observée en conditions d'anoxie, chez une plante marine (*Zostera marina*), sans qu'il y ait de modifications de la disponibilité en azote (Pregnall 2004). L'évolution dans les racines des teneurs en acides aminés et de leur composition peut, en retour, également moduler l'activité GS. Par exemple le glutamate, la glutamine et l'acide γ -aminobutyrique (GABA) stimulent l'activité GS (Pregnall 2004).

La GS foliaire a tendance à diminuer sous ennoyage, notamment chez *Q. petraea* qui montre une inhibition significative de la GS foliaire au cours de l'expérience. Au niveau des feuilles, il est peu probable que la GS utilise l'ammonium venant du sol. L'activité GS foliaire dépend certainement davantage de l'ammonium intrinsèque produit par le catabolisme des protéines. Dans les feuilles des semis ennoyés des deux espèces, on observe une carence en azote qui peut être liée à cette baisse d'activité GS.

Chez les deux espèces de chêne étudiées, l'ennoyage ne provoque pas d'inhibition de l'assimilation azotée dans les racines. Les activités NR semblent indiquer que l'assimilation des nitrates reste effective en dépit de la carence en nitrates dans la rhizosphère. Quant au maintien de l'activité GS racinaire à des niveaux élevés, notamment chez *Q. petraea*, il signifie que l'assimilation de l'ammonium est maintenue. La réduction des nitrates peut être complétée par l'assimilation directe de l'ammonium, abondant dans la rhizosphère ennoyée.

IX.3 Allocation azotée

Nos résultats montrent que chez *Q. robur*, les cotylédons des semis ennoyés contiennent des teneurs en acides aminés significativement supérieures à celles des témoins, ce qui n'est pas le cas chez *Q. petraea*. Chez *Q. robur*, Alaoui-Sossé *et al.* (2005) ont également détecté sous ennoyage une limitation du transfert des acides aminés des cotylédons vers les organes en croissance. La réduction de la croissance des semis ennoyés peut contribuer à ralentir la mobilisation de l'azote cotylédonaire. En conditions d'ennoyage, chez *Q. robur* il y a, en début d'expérience, une accumulation transitoire d'acides aminés dans la racine pivot. Chez *Q. petraea*, il n'y a pas eu d'accumulation d'acides aminés dans le pivot et l'exportation des acides aminés cotylédonaire n'a pas été perturbée par l'ennoyage.

La forte augmentation des teneurs en azote soluble dans la racine pivot des semis ennoyés de *Q. robur* (Figure 22) correspond en fait à une augmentation transitoire des teneurs en acides aminés dans cet organe (Figure 19a). En revanche, l'ennoyage entraîne chez les deux espèces une accumulation persistante d'acides aminés dans les racines latérales. Des phénomènes d'accumulation d'acides aminés dans les racines en conditions d'anoxie ont souvent été observés (Drew 1997, Reggiani et Bertani 2003, Koppitz 2004, Kato-Noguchi et Ohashi 2006). Ils peuvent être directement liés à l'activité GS. Chez le riz, en conditions d'anoxie les enzymes du cycle GS-GOGAT seraient directement responsables de l'accumulation d'acides aminés dans les racines (Reggiani *et al.* 2000). Cependant, l'accumulation d'acides aminés dans les racines des semis ennoyés peut également résulter des modifications du métabolisme sous hypoxie. La transamination du pyruvate (produit de la glycolyse) en acides aminés, via l'alanine aminotransférase, peut effectivement être impliquée pour maintenir la production énergétique et le recyclage des nucléotides réduits (Good et Muench 1993, Fan *et al.* 1997, Dennis *et al.* 2000, Gibbs et Greenway 2003). L'accumulation d'acides aminés dans les racines sous hypoxie se traduit généralement par des modifications qualitatives de leur composition (Fan *et al.* 1997, Puiatti et Sodek 1999, Koppitz 2004). Certains acides aminés peuvent directement contribuer à la tolérance à l'ennoyage. L'alanine et l'acide γ -aminobutyrique (GABA) semblent notamment impliqués dans la stabilisation du pH et du potentiel osmotique (Crawford *et al.* 1994, Reggiani et Bertani 2003, Kato-Noguchi et Ohashi 2006). Dans les racines des semis ennoyés de chêne (*Q. robur*), de peupliers et de hêtre, Kreuzwieser *et al.* (2002) observent notamment une accumulation de GABA. Les semis ennoyés de *Q. robur* présentent au début de leur développement une plus forte accumulation

d'acides aminés (racine pivot plus racines latérales) que les semis de *Q. petraea* qui pourrait correspondre à la mise en place de changements métaboliques plus efficaces ou plus rapides que chez *Q. petraea*.

Contrairement aux racines, dans les feuilles et les tiges des deux espèces de chênes, on observe sous ennoyage une forte diminution de l'allocation azotée. Ce phénomène a déjà été mentionné chez les semis ennoyés de *Q. robur* (Alaoui-Sossé *et al.* 2005) et il pourrait être dû à une baisse du transfert de l'azote assimilé, depuis les racines vers les feuilles. Chez le soja sous hypoxie, Puiatti et Sodek (1999) observent une diminution du transport des acides aminés via le xylème, accompagnée d'une baisse de la teneur foliaire en acides aminés. Dans les feuilles de semis de chêne ennoyés de *Q. robur*, *Q. rubra* et *Q. palustris*, Colin-Belgrand *et al.* (1991) observent également une carence en azote, mais sans atteindre un seuil qualifié de déficience. Dans le présent travail, la carence en azote observée dans les feuilles correspond notamment à une diminution des teneurs en chlorophylle et en acides aminés alors que les teneurs en protéines ne sont pas affectées. La diminution des teneurs en chlorophylle est une réponse à l'ennoyage qui s'observe chez de nombreuses espèces d'arbres (Gravatt et Kirby 1998, Kreuzwieser *et al.* 2002, Ye *et al.* 2003, Parelle *et al.* 2006). L'ennoyage n'a pas entraîné de réduction des teneurs en protéines, ni dans les racines ni dans les feuilles. Au contraire, dans les racines latérales elles sont souvent supérieures à celles des témoins. Dans les travaux de Kreuzwieser *et al.* (2002), parmi les semis ennoyés de chêne, de peuplier et de hêtre, seule l'espèce la plus sensible à l'ennoyage, le hêtre, montre une diminution des teneurs en protéines racinaires. L'augmentation des teneurs en protéines dans les parties racinaires pourrait être liée à la biosynthèse d'enzymes spécifiquement induites par le stress anaérobique, les ANPs "anaérobic proteins" (Sachs *et al.* 1996, Vartapetian et Jackson 1997, Drew 1997). Ces ANPs regroupent environ une vingtaine d'enzymes qui sont principalement impliquées dans le métabolisme des sucres, de leur mobilisation à la glycolyse, dans les voies fermentaires éthanolique et lactique, ainsi que dans le métabolisme azoté, notamment avec l'alanine aminotransférase (Ricard *et al.* 1994, Dennis *et al.* 2000, Subbaiah et Sachs 2003). Chez *Q. robur* et *Q. petraea* la stimulation de certaines ANPs a déjà été observée par Parelle *et al.* (2006), notamment les enzymes comme la pyruvate décarboxylase (PDC) et l'alcool déshydrogénase (ADH).

Chez les deux espèces, nos résultats montrent à la fin de l'expérience une diminution significative des teneurs en acides aminés dans la racine pivot des semis ennoyés. Il est envisageable que, sur la longue période d'ennoyage (environ 2 mois et demi), il y ait eu un besoin accru en azote pour la synthèse de nouvelles ANPs dans les racines latérales, entraînant une utilisation croissante des acides aminés d'autant plus que les réserves cotylédonaire s'épuisent.

IX.4 Effets du drainage sur la nutrition azotée des semis ennoyés

Les activités NR sont d'abord stimulées, dix jours après drainage, puis elles diminuent en fin d'expérience. Les activités NR suivent ainsi les teneurs en nitrates disponibles dans la rhizosphère avec d'abord une forte augmentation suite au drainage puis une diminution en fin d'expérience. Cependant, dix jours après drainage, les semis de *Q. petraea* montrent une plus forte activité NR que les semis de *Q. robur*. De plus, les teneurs racinaires en nitrates sont plus élevées chez les semis de *Q. petraea*. En ce qui concerne les activités GS, dans les feuilles et les racines des semis drainés de *Q. petraea*, elles deviennent similaires aux témoins alors que, dans les racines des semis de *Q. robur*, elles sont inhibées. Ces résultats témoignent d'une plus grande aptitude de *Q. petraea* à s'adapter rapidement aux changements de disponibilité de l'azote rhizosphérique. Cela se confirme également au niveau de l'allocation azotée.

Après drainage, chez les deux espèces la teneur en protéines devient progressivement similaire à celle des témoins. En ce qui concerne l'accumulation des acides aminés dans les racines latérales, elle diminue chez les deux espèces. Dans la racine pivot, dix jours après drainage on observe chez les deux espèces une chute significative des teneurs en acides aminés. Ensuite, en fin d'expérience, ces teneurs sont similaires aux témoins dans les racines de *Q. petraea*, ce qui n'est pas le cas chez *Q. robur*. En revanche, dans les feuilles, après drainage les teneurs en acides aminés restent faibles chez les deux espèces. Chez *Q. robur*, après deux semaines de drainage, Alaoui-Sossé *et al.* (2005) ont fait les mêmes observations au niveau des feuilles et des racines. La très forte reprise de croissance après drainage, notamment racinaire, a créé une forte demande des puits de croissance, mobilisant certainement beaucoup de ressources. Au vu des RGRs des différents organes des semis drainés, la compétition entre les puits de croissance foliaire et racinaire peut entraîner certainement une demande beaucoup plus forte vers les racines. Sur la durée de cette expérience, les parties aériennes n'ont pas bénéficié d'une amélioration de l'allocation azotée. Globalement, au vu de l'ensemble de ces résultats, après le drainage des pots ennoyés la nutrition azotée semble se rétablir plus efficacement chez les semis de *Q. petraea* que chez ceux de *Q. robur*.

IX.5 Importance de la nutrition azotée chez les chênes exposés à des conditions d'ennoyage

Les activités NR et GS mesurées chez les semis de chênes ennoyés semblent indiquer que l'absorption du nitrate et de l'ammonium sont toujours effectives. Cependant, l'utilisation d'engrais azotés enrichis en ^{15}N permettrait d'évaluer plus précisément les parts respectives des différentes formes d'azote absorbées par les semis. L'ennoyage affecte peu l'assimilation azotée de *Q. robur* et de *Q. petraea*, mais l'allocation azotée est néanmoins perturbée. On observe d'une part une accumulation d'azote dans les racines et d'autre part une carence

azotée dans les feuilles. Chez *Syzygium samarangense* (jamalac ou "wax-apple tree"), l'ennoyage entraîne une réduction des activités enzymatiques racinaires de la NR et plus particulièrement de la GS, alors que dans les feuilles l'activité GS est stimulée (Hsu *et al.* 1999). Ces auteurs observent également une augmentation des teneurs en azote soluble (protéines et acides aminés) dans les feuilles alors qu'elles diminuent dans les racines. Selon Hsu *et al.* (1999), l'ennoyage entraînerait une forte diminution du métabolisme azoté racinaire de *Syzygium samarangense*. A l'inverse, les résultats que nous avons obtenus chez les semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* montrent que le métabolisme azoté est réduit dans les feuilles mais pas dans les racines. Dans les feuilles, l'allocation azotée semble entravée par l'ennoyage alors que l'assimilation (enzymatique) de l'azote ne l'est pas. Néanmoins, chez des semis ennoyés de *Q. robur* âgés de 2 ans, Kreuzwieser *et al.* (2002) ont obtenu des résultats opposés. En effet, ces auteurs observent dans les racines une diminution de plus de la moitié des teneurs totales en acides aminés, après 3 et 14 jours d'ennoyage. En revanche, dans les feuilles, Kreuzwieser *et al.* (2002) n'ont pas détecté de perturbation des teneurs totales en acides aminés ni des teneurs en protéines. De même, Schmull et Thomas (2000) n'ont pas observé de modification de l'allocation azotée foliaire chez des semis ennoyés de *Q. robur* et de *Q. petraea* âgés d'un an. Chez l'aulne, l'ennoyage réduit de manière drastique l'allocation azotée aussi bien dans les racines que dans les feuilles, en particulier si l'excès d'eau a lieu au printemps, au moment du développement des feuilles (Kaelke et Dawson 2003).

Les effets de l'ennoyage sur la nutrition azotée des ligneux apparaissent très variables. Les causes des différentes perturbations observées ne sont pas clairement identifiées. Il est possible que ces variations soient liées à l'âge des plants utilisés, leur stade de développement et aux méthodes expérimentales (notamment période et mode d'application du stress).

Dans le présent travail, au vu des quantités d'azote ammoniacal disponibles en conditions d'ennoyage et, étant donné que l'assimilation azotée est maintenue, il est difficile de comprendre pourquoi on observe une carence azotée dans les feuilles. Il est vraisemblable que cette déficience en azote foliaire résulte d'un problème de transfert par la sève xylémienne.

Avec des plants de peuplier, de chêne (*Q. robur*) et de hêtre, Kreuzwieser *et al.* (2002) observe une corrélation claire entre la tolérance des arbres à l'ennoyage et l'impact de l'ennoyage sur l'absorption et le métabolisme azoté. Ces arbres présentent par ailleurs des différences bien marquées de tolérance à l'ennoyage. Dans notre travail, les stratégies de tolérance à l'ennoyage mises en place au niveau de l'assimilation et de l'allocation azotée n'apparaissent pas comme des critères discriminants qui expliqueraient les différences de tolérance à l'ennoyage de *Q. robur* et de *Q. petraea*. Dans un premier temps (pendant la première vague de croissance), l'allocation azotée racinaire semble plus efficace chez *Q. robur*. Ceci pourrait être une conséquence de la mise en place de voies métaboliques impliquant l'azote en réponse au déficit en oxygène, plus rapidement ou plus fortement que chez *Q. petraea*. Dans nos conditions expérimentales, il reste toutefois difficile de différencier les conséquences directes du manque d'oxygène de celles liées aux modifications de la disponibilité en azote rhizosphérique. Dans l'ensemble, les modifications de la composition azotée dans la rhizosphère ennoyée semblent légèrement moins délétères pour les semis de

Q. petraea que pour ceux de *Q. robur*. Ces résultats sont corroborés par les exigences écologiques de ces espèces. En effet, *Q. petraea* est une espèce qui se développe généralement sur des sols plus pauvres en nitrates où les teneurs en azote ammoniacal sont souvent élevées, alors que *Q. robur* affectionne davantage les sols riches (Lévy *et al.* 1992). Nos résultats indiquent que, sous ennoyage, *Q. petraea* présente une plasticité légèrement supérieure à celle de *Q. robur* face aux changements de la composition azotée de la rhizosphère.

X. Conclusions générales

Dans le contexte environnemental actuel, l'une des plus importantes préoccupations concerne le changement climatique global et ses conséquences sur les écosystèmes. Dans les années à venir, les forêts tempérées pourraient subir de fortes variations d'alimentation en eau. Des prévisions climatiques indiquent que le régime des précipitations évolue vers une alternance de périodes marquées par de fortes pluies et par d'intenses sécheresses. L'engorgement, tout comme la sécheresse, sont des stress très contraignants pour les arbres. A cette évolution climatique s'ajoutent les activités anthropiques, comme l'urbanisation croissante et les travaux de terrassement qui augmentent les ruissellements, l'utilisation des forêts de basse altitude comme champs d'expansion des crues... Ces différents facteurs provoqueront vraisemblablement une augmentation de la fréquence et de l'intensité des engorgements temporaires des sols forestiers.

L'engorgement du sol correspond à un engorgement, saturation de la porosité du sol, par l'eau. Les échanges gazeux avec l'atmosphère sont alors drastiquement réduits et l'oxygène consommé par les racines et les microorganismes du sol n'est plus renouvelé. La principale contrainte imposée aux plantes par l'engorgement du sol est un déficit en oxygène. Le sol passe en état d'hypoxie voire d'anoxie.

L'engorgement inhibe ou retarde la germination des graines, limite la survie des semis et réduit la production végétale. La régénération naturelle est diminuée. L'engorgement exerce une pression sélective sur les essences forestières. Ce stress touche en premier lieu les racines, mais a des répercussions sur la plante entière. L'altération du système racinaire s'accompagne de perturbations des relations hydriques et la photosynthèse est également inhibée. La croissance de la plante entière peut être inhibée. Les premières réponses touchent essentiellement le métabolisme énergétique et se mettent en place très rapidement. L'oxygène n'étant plus disponible pour la respiration, la production d'énergie utilise alors d'autres procédés, essentiellement la glycolyse suivie de la fermentation éthanolique. La gestion des réserves glucidiques devient rapidement un point critique, d'autant plus que l'assimilation globale du carbone est inhibée. Dans ces conditions, les plantes mettent en place des stratégies de tolérance pour survivre. Certaines stratégies visent à ajuster le métabolisme aux faibles teneurs en oxygène, alors que d'autres stratégies permettent d'éviter ou de diminuer le stress hypoxique cellulaire par l'apport d'oxygène aux organes engorgés. Généralement, des réponses anatomiques se mettent également en place après plusieurs jours de stress. Il s'agit essentiellement de la mise en place de racines d'adaptation dont la porosité est augmentée par la formation de lacunes ou d'aérenchymes dans le cortex racinaire. Ces racines remplacent les racines dont le fonctionnement est altéré.

L'analyse des données bibliographiques disponibles montre que, même s'il existe de nombreuses études sur les effets de l'hypoxie ou de l'anoxie, les réponses adaptatives des ligneux à l'engorgement sont encore largement méconnues.

L'objectif général de ce travail est d'améliorer la connaissance des mécanismes physiologiques qui président à la tolérance à l'ennoyage du chêne.

Nous avons étudié le chêne pédonculé (*Quercus robur*) et le chêne sessile (*Quercus petraea*) qui sont deux espèces représentatives des essences forestières des régions tempérées de l'Europe. L'intérêt d'utiliser ces deux espèces relativement proches réside dans leur différence de tolérance à l'ennoyage. Le chêne pédonculé est réputé tolérant alors que le chêne sessile est plus sensible. Les différences interspécifiques obtenues chez le chêne pédonculé et le chêne sessile permettent de faire émerger des traits, "marqueurs physiologiques", qui pourraient expliquer les différences de tolérance à l'ennoyage observées chez les ligneux.

Les réponses à l'ennoyage du chêne pédonculé et du chêne sessile ont été étudiées à des stades précoces de développement, lorsqu'ils sont sous l'influence des cotylédons. Ce travail constitue ainsi un état des lieux sur la réponse des chênes à l'ennoyage au stade jeune semis. L'étude des cotylédons apporte des résultats originaux au regard des travaux déjà réalisés sur ces deux espèces ou bien sur des espèces de grande culture en situation d'ennoyage. De plus, la démarche expérimentale suivie inclue **une période de drainage pour mimer un ennoyage temporaire**, ce qui est souvent observé en conditions naturelles. Les capacités de récupération post-stress étant relativement peu étudiées, la modalité drainage constitue une part originale de ce travail. Les informations obtenues après drainage ont notamment contribué à mieux distinguer les deux espèces étudiées.

(I) Développement, croissance aérienne et architecture racinaire des jeunes semis

Dans nos expériences, aucune mortalité des semis n'a été observée à l'issue de la période d'ennoyage. **Le développement du premier étage foliaire est relativement peu perturbé par l'ennoyage.** En revanche, **le taux de mise en place d'un deuxième étage foliaire est restreint, notamment chez le chêne sessile. De plus, lorsqu'il se développe, la croissance du deuxième étage foliaire est fortement réduite par l'ennoyage.** Chez les deux espèces, la croissance aérienne est inhibée au niveau foliaire (biomasse et surface) et au niveau de l'élongation de la tige. En revanche, l'accumulation de biomasse dans la tige du premier étage n'est pas significativement affectée par l'ennoyage.

Chez les deux espèces, la croissance racinaire est drastiquement inhibée par l'ennoyage. Cependant, à l'opposé de ce qui s'observe pour l'appareil aérien, **après la première vague de croissance foliaire le taux de croissance relatif (RGR) racinaire en biomasse est élevé, en particulier chez le chêne pédonculé.** Ce phénomène traduit dans un premier temps un plus fort investissement dans la croissance aérienne (mise en place du premier étage foliaire et de l'autotrophie du semi) puis, dans un second temps, un plus fort investissement dans la croissance racinaire. **La capacité à stimuler la croissance racinaire sous ennoyage est un marqueur important de tolérance à ce stress (Kozlowski 1997), plus prononcé chez le chêne pédonculé.**

L'analyse détaillée de l'architecture racinaire (capacité d'élongation des racines latérales et distribution le long du pivot) permet de mieux distinguer ces deux espèces. L'architecture racinaire est similaire chez les semis témoin des deux espèces mais elle est fortement modifiée par l'ennoyage avec des traits particuliers selon l'espèce. En effet, **les semis ennoyés de chêne pédonculé montrent une forte colonisation des horizons superficiels du sol par les racines latérales** (élongation et initiation). A l'inverse, chez les semis ennoyés de chêne sessile l'initiation des racines latérales est maintenue tout le long du pivot mais leur élongation est drastiquement réduite. **Cette étude montre que chez les semis de chêne, sous ennoyage, différentes stratégies de développement racinaire peuvent se mettre en place dès les premiers mois de croissance.**

Après la mise en place du premier étage des semis ennoyés, l'application d'un drainage accentue les différences de croissances observées entre les deux espèces. **Suite au drainage, les deux espèces présentent rapidement (après 10 jours) une forte reprise de l'élongation des racines latérales et du pivot avec également l'initiation de nouvelles racines.** Chez le chêne pédonculé cette reprise de la croissance racinaire (après 10 jours) s'observe principalement dans la partie basale du pivot alors que chez le chêne sessile elle s'observe plutôt en profondeur. **Le chêne pédonculé rétablit un système racinaire particulièrement vigoureux dont la biomasse devient similaire aux témoins et dépasse nettement celle développée chez le chêne sessile.** Dans une moindre mesure, le drainage est également favorable à la croissance aérienne. Les semis ennoyés bénéficiant d'un drainage retrouvent un taux de mise en place du deuxième étage foliaire proche des témoins. **Les semis de chêne pédonculé ennoyés puis drainés ont la capacité de rattraper leur retard de croissance en biomasse (par rapport aux témoins) en seulement une vague de croissance foliaire, ce qui n'est pas le cas chez le chêne sessile.**

L'ensemble des paramètres de croissance étudiés montre que sous ennoyage les semis de chêne pédonculé sont plus vigoureux que les semis de chêne sessile. Il en ressort que l'ennoyage a peu d'effets sur la première vague de croissance foliaire mais inhibe la deuxième vague. La croissance racinaire est plus particulièrement inhibée. Les deux espèces présentent sous ennoyage une architecture racinaire contrastée. **Le chêne pédonculé est capable de maintenir la croissance racinaire dans les horizons superficiels du sol ennoyé et, après drainage, son aptitude à régénérer des racines est plus efficace que chez le chêne sessile. C'est après drainage que les deux espèces divergent le plus nettement.** Néanmoins, l'hétérogénéité des résultats, qui reflète certainement une forte variabilité génétique, ne permet de parler que de tendances. La plus grande tolérance à l'ennoyage du chêne pédonculé est probablement liée à **la combinaison d'un ensemble d'avantages adaptatifs.** Ce point de vu est développé dans la suite de la conclusion (pp186 et 187).

(II) Gestion des réserves glucidiques et importance des cotylédons

Pour la régénération des essences forestières, la première année de croissance des jeunes semis est décisive. C'est à partir de ses réserves cotylédonaire que le semis doit mettre en place un système racinaire et un appareil aérien afin d'assurer son autotrophie. De plus, chez ces espèces pérennes, il est indispensable de constituer de larges réserves glucidiques afin que l'appareil végétatif soit en mesure de résister à la mauvaise saison. Or, dans le même temps, les jeunes semis sont susceptibles de subir des phénomènes d'ennoyage qui mettent directement en jeu les hydrates de carbone. La mobilisation des réserves amylacées et l'approvisionnement des cellules en sucres conditionnent la survie des plantes face à un ennoyage de longue durée. **La gestion des réserves glucidiques (mobilisation - utilisation - stockage) a été mise en relation avec la tolérance à l'ennoyage des semis de chêne pédonculé et de chênes sessile.**

Dès les premiers stades de la croissance juvénile, les semis de chêne constituent de larges réserves d'amidon, stockées essentiellement dans le compartiment racinaire (jusqu'à 90% de l'amidon total). L'ennoyage entraîne une diminution de la quantité totale d'amidon stocké et des modifications de sa distribution entre les différents organes. Cependant, **chez les deux espèces ennoyées, les processus de mise en réserve de l'amidon restent actifs.** Après la deuxième vague de croissance, les quantités totales en amidon des semis ennoyés des deux espèces ne sont plus significativement différentes de celles des témoins respectifs. **Sous ennoyage, les réserves d'amidon sont principalement accumulées dans la tige du premier étage foliaire et dans les deux premiers cm du pivot** (significativement supérieures à celles des témoins). Dans les feuilles, l'ennoyage n'entraîne pas d'accumulation d'amidon ni de saccharose par rapport aux témoins. Chez ces deux espèces, **l'exportation des photoassimilats ne semble pas inhibée par l'ennoyage.** En revanche, une accumulation des sucres réducteurs est observée dans les feuilles des deux espèces ennoyées. Elle pourrait correspondre à un ajustement osmotique consécutif à une déshydratation des tissus foliaires. L'approvisionnement des racines en glucides n'est pas inhibé par l'ennoyage et semble suffisant chez les deux espèces. Cette capacité est généralement considérée comme un facteur majeur de la tolérance à l'hypoxie (Gravatt et Kirby 1998, Islam et Macdonald 2004, Kreuzwieser *et al.* 2004). **L'ennoyage n'entraîne pas de carence en hydrates de carbone au cours des deux premières vagues de croissance** des jeunes semis de chêne pédonculé et de chêne sessile. Ceci a dû contribuer à la survie des jeunes semis et à l'absence de mortalité au cours de l'ennoyage. Cependant, sur la courte durée de l'expérience, la contribution des cotylédons peut masquer un déficit glucidique dû à l'ennoyage.

L'ennoyage ralentit la mobilisation des réserves cotylédonaire, en acides aminés et plus particulièrement en sucres issus de l'hydrolyse de l'amidon. La réduction du taux de mobilisation de l'amidon des cotylédons s'observe chez les deux espèces, mais de manière nettement plus prononcée chez le chêne pédonculé. Ces résultats montrent que les semis de chêne pédonculé n'ont besoin d'hydrolyser qu'une faible quantité d'amidon

cotylédonaire pour assurer le développement du premier étage foliaire et survivre aux conditions d'ennoyage. **Contrairement à ce qui s'observe chez les espèces céréalières, une forte mobilisation des réserves cotylédonaires chez les semis de chênes en condition d'ennoyage n'apparaît pas comme un caractère de tolérance.** Après drainage, les réserves cotylédonaires d'amidon subsistantes sont très rapidement hydrolysées. Les mesures d'activité des enzymes cotylédonaires impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon montrent que, **chez les deux espèces, les amylases sont toujours présentes et actives pendant l'ennoyage.** Globalement, peu de modifications sont observées pour l'activité amylasique totale, mais des différences d'activité α -amylasique sont obtenues. **L'activité α -amylasique diminue sous ennoyage, en particulier chez le chêne pédonculé. Elle montre une bonne concordance avec les taux de mobilisation des réserves d'amidon des cotylédons.** Dans les cotylédons des semis ennoyés, les teneurs en saccharose augmentent et celles en sucres réducteurs diminuent. La synthèse du saccharose y est donc maintenue, mais elle semble plus importante que son exportation. Finalement, dans les cotylédons des semis ennoyés, **la faible utilisation des réserves amylacées résulterait d'une limitation de l'exportation du saccharose dont l'accumulation pourrait inhiber les activités amylasiques.** L'hydrolyse de l'amidon cotylédonaire se trouverait alors modulée par le niveau d'exportation du saccharose, qui diminue sous ennoyage. La faible exportation du saccharose cotylédonaire des semis ennoyés peut être liée d'une part directement à des problèmes de translocation des sucres, impliquant les processus de chargement-déchargement du phloème, et d'autre part à une plus faible demande en hydrates de carbone des organes puits dont la croissance est inhibée.

Le suivi du contenu glucidique (amidon et sucres solubles) des organes de réserve (cotylédons) et des organes en croissance lors du développement des jeunes semis n'indique **pas de pénurie en glucide sous ennoyage.** Les comportements du chêne pédonculé et du chêne sessile sont relativement proches, notamment en ce qui concerne les sucres solubles. **Sous ennoyage, l'accumulation totale d'amidon est réduite mais elle reste active dans la partie basale du pivot et dans la tige des deux espèces.** Elle est cependant **plus élevée chez le chêne pédonculé.** **L'ennoyage restreint la mobilisation des réserves cotylédonaires, notamment de l'amidon, de façon nettement plus marquée chez le chêne pédonculé.** Le suivi des réserves cotylédonaires apporte ainsi des résultats originaux : **la tolérance à l'ennoyage chez les semis de chêne n'est pas associée à une stimulation des amylases cotylédonaires et à une forte mobilisation des réserves glucidiques.** En définitive, **la gestion globale des réserves amylacées est contrastée : le chêne pédonculé apparaît plus économe en glucide que le chêne sessile** (faible mobilisation cotylédonaire / stockage élevé de l'amidon). Cette particularité pourrait constituer un marqueur physiologique important de la tolérance à l'ennoyage chez les chênes. Elle est plus amplement discutée dans la suite de la conclusion (p187) et renvoie au concept d'un **bilan de carbone.**

(III) Nutrition azotée

Les microorganismes du sol sont des acteurs essentiels de la biodisponibilité des éléments minéraux, mais ils sont très sensibles aux variations des teneurs en oxygène. L'ennoyage modifie les communautés microbiennes et leurs activités métaboliques. Sous ennoyage, les bactéries à métabolisme anaérobie deviennent majoritaires et celles-ci engendrent des changements de la composition minérale du sol. L'azote est le premier élément concerné. Les différentes formes d'azote minéral assimilable par les chênes, le nitrate et l'ammonium, subissent alors de profondes modifications de leur disponibilité. **La contribution de la nutrition azotée (assimilation – allocation) a été évaluée dans la tolérance à l'ennoyage des semis de chêne pédonculé et de chênes sessile, en suivant au préalable le devenir de la disponibilité des éléments minéraux azotés dans la rhizosphère.**

Dans la rhizosphère sous ennoyage, **les teneurs en nitrate ont drastiquement chuté mais les teneurs en ammonium ont montré une forte augmentation.** Dans ces expériences, les conséquences de l'ennoyage sont donc un changement qualitatif des formes d'azote minéral disponible. Ce changement est réversible après drainage et serait lié au basculement des activités bactériennes de nitrification / dénitrification. Cette situation conduit à une forte diminution des teneurs en nitrate dans les tissus racinaires. Les ions nitrates sont indétectables dans les feuilles des semis témoins et ennoyés. Cependant, l'activité de la nitrate réductase (NR), enzyme inductible par son substrat, ne semble pas affectée. **Chez les deux espèces, les activités NR racinaires et foliaires des semis ennoyés restent actives** en dépit des très faibles teneurs en nitrates disponibles. L'ennoyage aurait donc un effet sur l'état d'activation de l'enzyme. **Un déficit en oxygène entraîne vraisemblablement une activation de l'enzyme NR des chênes.** Au niveau des activités de la glutamine synthétase (GS), peu de variations sont observées. Chez le chêne pédonculé, les activités GS racinaires et foliaires ne sont pas modifiées par l'ennoyage. En revanche, **chez le chêne sessile l'activité GS racinaire est stimulée par l'ennoyage.** En conditions d'ennoyage, l'assimilation directe de l'ammonium, présent en excès dans la rhizosphère, pourrait éventuellement contrebalancer la carence en azote nitrique.

L'allocation azotée des semis est perturbée par l'ennoyage. L'ennoyage entraîne une **accumulation d'azote dans les racines des deux espèces, essentiellement sous forme d'acides aminés.** L'augmentation des teneurs en protéines dans les racines ennoyées pourrait être liée à la stimulation de la synthèse d'enzymes spécifiques des voies métaboliques anaérobiques. En revanche, **l'ennoyage entraîne une carence en azote soluble et insoluble au niveau des feuilles.** Les teneurs en acides aminés et en chlorophylles sont réduites mais les teneurs en protéines ne sont pas affectées. L'absence de carence azotée dans le compartiment racinaire indique **un possible dysfonctionnement du transfert xylémien** à l'origine de la plus faible teneur de certains composés azotés dans les feuilles. Après drainage, le chêne sessile semble rétablir son métabolisme azoté avec une plus grande efficacité que le chêne pédonculé. Globalement, chez le chêne sessile la nutrition azotée semble légèrement

moins affectée par l'ennoyage que chez le chêne pédonculé. Ce phénomène est inattendu compte tenu de la plus grande performance du chêne pédonculé à régénérer ses racines sous ennoyage et après drainage. Il est possible que le chêne sessile présente une plus grande plasticité que le chêne pédonculé pour faire face à des variations qualitatives et quantitatives de l'azote minéral du sol.

Dans la rhizosphère, l'ennoyage entraîne un basculement réversible des formes azotées nitrates / ammonium. Chez le chêne pédonculé et le chêne sessile, les modifications du métabolisme azoté en conditions d'ennoyage sont globalement similaires. L'assimilation de l'azote, via la nitrate réductase et la glutamine synthétase, ne semble pas réellement perturbée. Un déficit en oxygène entraîne vraisemblablement une activation de l'enzyme de la nitrate réductase des chênes. En conditions d'ennoyage, les deux espèces présentent une carence azotée uniquement au niveau foliaire. La nutrition azotée n'explique pas les différences de tolérance à l'ennoyage qui existent entre ces deux espèces. L'assimilation et l'allocation azotée n'apparaissent donc pas comme des marqueurs de tolérance à l'ennoyage chez le chêne pédonculé et le chêne sessile. Au vu des paramètres étudiés, il semblerait même que la nutrition azotée chez le chêne sessile soit légèrement moins affectée par l'ennoyage que chez le chêne pédonculé.

Variabilité génétique et marqueurs physiologiques de tolérance à l'ennoyage

Au cours des différentes expériences réalisées, les semis étaient issus de glands de deux provenances. De manière générale, chez ces espèces les variations interindividuelles sont élevées. Au vu des paramètres étudiés, **on observe chez les semis des deux espèces une variabilité de réponse qui semble liée à la provenance des glands.** Les variations interindividuelles sont plus grandes avec les semis d'origine "ONF" qui proviennent de larges populations et présentent sans doute une plus grande diversité. Quant aux glands d'origine "Montbéliard", ils pourraient correspondre à des écotypes.

En conditions d'ennoyage, les deux espèces présentent des réponses très similaires, mais la **tolérance à l'ennoyage des individus dépend vraisemblablement de la combinaison de plusieurs avantages adaptatifs.** Le déterminisme de la réponse des chênes au stress hypoxique semble dispersé sur l'ensemble de leur génome (Parelle *et al.* 2007b). La différence de tolérance à l'ennoyage entre le chêne pédonculé et le chêne sessile pourrait être liée à la fréquence d'individus présentant des phénotypes extrêmes, combinant plusieurs avantages adaptatifs, plutôt qu'à des différences phénotypiques propres à chaque espèce (Parelle *et al.* 2007a, b). Dans le présent travail, l'ensemble des résultats obtenus au cours des différentes expériences s'accorde bien avec cette hypothèse. **Des phénotypes tolérants peuvent potentiellement apparaître chez le chêne sessile mais les individus tolérants seraient plus fréquents dans les populations de chêne pédonculé.**

En conditions d'ennoyage, les capacités d'installation des jeunes semis de chêne pédonculé sont globalement supérieures à celles du chêne sessile. **La plasticité racinaire du chêne pédonculé, notamment la faculté de développer des racines superficielles pendant l'ennoyage, est certainement impliquée dans la tolérance à l'ennoyage.** Ces résultats corroborent ceux obtenus *in situ* par Shahriari (2003) sur des chênes pédonculés et des chênes sessiles adultes et également sur des semis. Cette plasticité racinaire peut contribuer à un meilleur établissement des semis sur les stations hydromorphes. En effet, les horizons superficiels du sol sont souvent plus oxygénés ou susceptibles de retourner plus rapidement à des conditions de normoxie. De plus, les semis ennoyés de chêne pédonculé montrent une très forte capacité de croissance lorsqu'ils retrouvent des conditions normoxiques, lors du drainage post stress. Des résultats similaires ont été soulignés par Shahriari (2003) chez des semis de chêne pédonculé âgés de quelques mois. Dans la présente étude, la disponibilité de réserves cotylédonaire relativement élevées, non utilisées au cours du stress, peut jouer un rôle dans cette très forte reprise de croissance. **La différence de croissance pendant la phase de drainage pourrait être déterminante dans l'établissement des semis sur les stations à ennoyage temporaire.** Dans ces stations, même si la croissance est fortement inhibée pendant la période de stress, si les semis y survivent, alors la très forte reprise de croissance du chêne pédonculé pendant la période de drainage peut lui procurer un avantage compétitif décisif sur le chêne sessile dans la colonisation du milieu. Ce travail contribue ainsi à l'étude de la régénération naturelle des essences forestières soumises à des conditions de stress abiotiques.

Bilan de carbone ?

En conclusion, même si les différences entre les semis de chêne pédonculé et de chêne sessile sont minimales pour chaque caractère de tolérance à l'ennoyage, l'accumulation de "petits" avantages adaptatifs peut se traduire au final par une différence de tolérance à l'ennoyage assez marquée. De plus, nos résultats montrent une différence nette entre les deux espèces de chêne quant à leur gestion des glucides pendant l'ennoyage. Les équilibres carbonés qui s'établissent en permanence entre les différents pools (pool assimilé / pool mis en réserve / pool utilisé) sont cruciaux pour rendre compte des différences observées entre les semis ennoyés des deux espèces. Les demandes des puits sont modifiées par l'ennoyage : la force des puits de croissance diminue mais simultanément les besoins en carbone liés à la mise en place du métabolisme hypoxique augmentent (le rendement énergétique du catabolisme est fortement réduit). Quant à l'activité des puits de stockage, elle reste relativement élevée chez les deux espèces. Cependant, sous ennoyage, le chêne pédonculé présente une plus forte croissance et une plus forte accumulation d'amidon que le chêne sessile, alors que les quantités d'hydrates de carbone qu'il mobilise depuis les sources cotylédonaire sont particulièrement faibles. Chez le chêne sessile ennoyé, les quantités de carbone mobilisées depuis les cotylédons dépassent largement les quantités de carbone accumulées par les semis, alors que l'accroissement en biomasse est fortement inhibé. Le chêne sessile présente donc sous ennoyage un **"bilan carboné déficitaire"**. En comparaison, les semis de chêne pédonculé montrent une meilleure capacité à croître et à se développer en conditions d'ennoyage, tout en économisant les réserves cotylédonaire d'amidon, ce qui se traduirait par un **"bilan carboné positif"** (Figure C-1). Les taux d'assimilation globale du CO₂ pourraient en partie rendre compte de ces différences entre espèces. Dans ce cas, la faible mobilisation des réserves cotylédonaire chez le chêne pédonculé pourrait être compensée par une assimilation du CO₂ beaucoup plus efficace que chez le chêne sessile. Cependant, l'ennoyage est connu pour inhiber l'assimilation nette du carbone, aussi bien chez le chêne sessile que chez le chêne pédonculé (Dreyer *et al.* 1991). Il est donc probable que d'autres facteurs interviennent. Néanmoins, il est difficile de les identifier précisément tellement les facteurs impliquant les glucides sont nombreux.

L'origine de la différence de gestion des glucides chez les deux espèces de chênes sous ennoyage peut impliquer tout processus permettant une économie des substrats carbonés, notamment en relation avec la régulation des voies énergétiques. Des diminutions de la respiration, du coût de construction, de la maintenance pourraient également intervenir. Chez les arbres tolérants à l'ennoyage, la part de photoassimilats fournie au métabolisme peut augmenter en réduisant sensiblement la part allouée au carbone structural, ce qui permettrait d'améliorer le métabolisme racinaire hypoxique et d'y maintenir un état énergétique plus élevé (Kogawara *et al.* 2006). Chez les arbres en conditions d'ennoyage, le recyclage des produits de la fermentation, notamment celui de l'éthanol, peut diminuer la dépense de composés carbonés et, ainsi, améliorer le rendement du métabolisme carboné des espèces les plus tolérantes (Kreuzwieser *et al.* 2004). De plus, le système racinaire superficiel plus

vigoureux chez le chêne pédonculé peut avoir un impact positif sur son "bilan carboné". Ces racines superficielles sont vraisemblablement des racines d'adaptation. Elles pourraient contribuer à un meilleur rendement du catabolisme énergétique en limitant les effets de l'hypoxie. En revanche, chez le chêne sessile, l'initiation de racines en profondeur pourrait se traduire par des besoins carbonés supplémentaires. La réduction des puits de croissance dans un environnement défavorable peut être perçue comme une stratégie d'économie des ressources carbonées.

La différence entre les deux espèces dans le rendement d'utilisation des hydrates de carbone en situation d'ennoyage pourrait s'expliquer par des besoins carbonés plus larges chez le chêne sessile, pour assurer la maintenance et la survie des tissus ennoyés, alors que, dans le même temps, l'assimilation foliaire du carbone pourrait être plus restreinte que chez le chêne pédonculé. Le chêne pédonculé pourrait également présenter un meilleur rendement énergétique en conditions d'ennoyage, contribuant à limiter les besoins glucidiques.

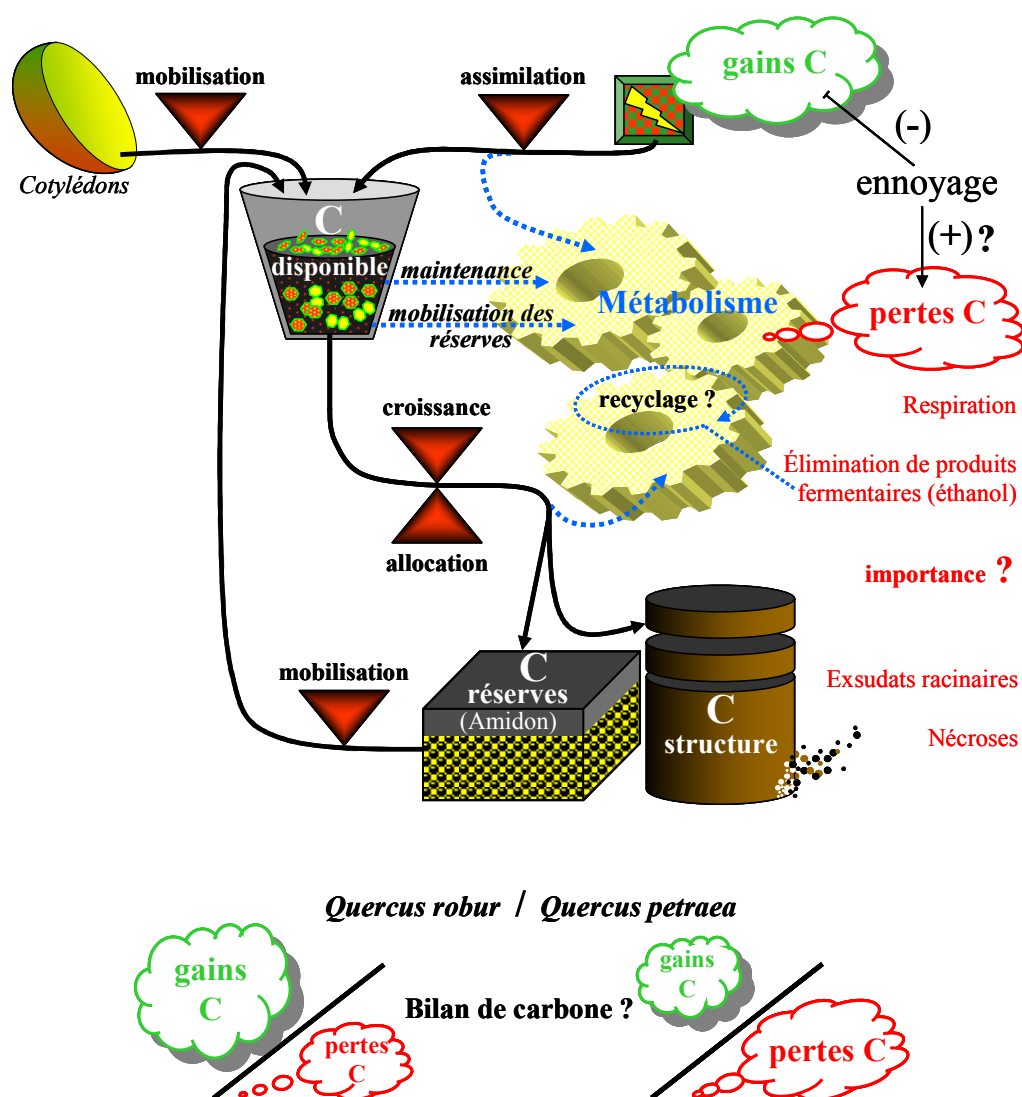


Figure C-1. Schématisation des flux de carbone.

Perspectives

Tout d'abord, plusieurs analyses permettraient d'améliorer directement les travaux présentés dans ce manuscrit. Le chêne sessile ne semble pas capable de constituer des réserves d'amidon dans les feuilles après la mise en place du premier étage foliaire (récolte R1) mais ses teneurs foliaires en sucres solubles ne sont pas différentes de celles du chêne pédonculé. Une différence de stratégie peut donc exister entre les deux espèces pour alimenter en sucres les racines mais demanderait des marquages au ^{13}C pour être validée. Cela permettrait d'évaluer la part de sucres provenant des feuilles et des cotylédons. De plus, le marquage au ^{13}C permettrait d'évaluer la répartition des photoassimilats entre catabolisme / réserves / carbone structural chez les semis de chêne ennoyés. Cette étude devrait être accompagnée de mesures de l'assimilation du carbone afin de vérifier l'importance d'un dysfonctionnement de la photosynthèse. L'analyse qualitative détaillée des sucres solubles au niveau foliaire permettrait de déterminer les sucres qui peuvent contribuer à un ajustement osmotique (diminution du potentiel osmotique) en réponse à une diminution du potentiel hydrique foliaire. En ce qui concerne la nutrition azotée, bien que le métabolisme azoté ne semble pas expliquer la tolérance à l'ennoyage chez ces espèces de chênes, il serait intéressant d'utiliser des engrais azotés marqués (^{15}N). L'utilisation successive du nitrate et de l'ammonium marqué permettrait d'évaluer la contribution respective de ces ions dans le métabolisme azoté des semis ennoyés, en apportant une plus grande précision que la mesure des activités enzymatiques de la nitrate réductase et de la glutamine synthétase. De plus, cela permettrait une estimation du flux d'azote des racines vers les feuilles, via le xylème, afin de vérifier si la carence foliaire en azote est liée à un dysfonctionnement du transfert xylémien. En combinaison avec le marquage de l'azote assimilé, une étude qualitative détaillée des acides aminés (dont l'azote est marqué) permettrait de préciser les voies métaboliques qui sont affectées par l'ennoyage dans l'allocation azotée.

D'une manière plus générale, au vu de la diversité et de l'hétérogénéité des populations de chênes et de la variabilité obtenue entre plusieurs provenances, il serait intéressant de tester un grand nombre de provenances de chêne pédonculé et de chêne sessile. Cela permettrait éventuellement d'identifier des écotypes dont la tolérance à l'ennoyage est particulièrement contrastée. L'utilisation de tels écotypes faciliterait l'identification des mécanismes de tolérance chez ces deux espèces. De plus, un travail sur de larges populations permettrait l'étude des variances, afin de préciser la variabilité de tolérance à l'ennoyage qui existe dans les populations de chêne pédonculé et de chêne sessile, notamment quant à leur gestion des réserves glucidiques. En outre, l'identification d'écotypes de chênes plus tolérants à l'ennoyage fournirait un outil sylvicole profitable dans le choix des provenances lors d'opérations de reforestation et d'amélioration des peuplements.

Enfin, pour améliorer la connaissance des mécanismes qui président à la tolérance à l'ennoyage, chez les chênes et plus largement chez les ligneux, de nouvelles pistes d'étude font suite à ce travail. En effet, un constat intéressant a été établi sur le bilan carboné des semis : il apparaît nettement déficitaire dans le cas du chêne sessile qui est plus sensible à l'ennoyage. De plus amples investigations sont nécessaires pour réaliser un bilan carboné complet et comprendre la **gestion des hydrates de carbone** chez les ligneux en conditions d'ennoyage. L'importance du coût carboné du stress hypoxique peut être précisée chez les ligneux en utilisant le chêne pédonculé et le chêne sessile comme modèle. Dans cette perspective, au vu des travaux déjà réalisés, il serait judicieux d'évaluer les flux de carbone sortant, notamment ceux qui sont liés au catabolisme énergétique. En d'autres termes, *sous hypoxie, quelles sont les quantités de carbone perdues par respiration et par le catabolisme anaérobique (essentiellement la fermentation éthanolique) ?*

Ceci pourrait être appréhendé dans des systèmes de culture contrôlés simplifiés de type hydroponie, en enfermant la partie aérienne des plantes dans une enceinte. Des mesures des flux de CO₂ échangés sont réalisables, dans un système en circuit ouvert, et permettent la mesure in situ de l'assimilation nette de CO₂ et d'évaluer la respiration. Le suivi des teneurs en éthanol dans la plante et dans le milieu de culture permettrait d'évaluer les pertes de carbone issues des produits de la fermentation. En plus de l'éthanol, d'autres produits du catabolisme anaérobique peuvent être recherchés dans le milieu de culture. Dans l'hypothèse d'une moindre dépense du carbone, on pourrait également s'intéresser au devenir de l'éthanol. Dans les feuilles, des processus de recyclage des produits fermentaires issus des racines ont déjà été décrits et constituent une piste intéressante. Dans le même temps, il serait possible d'évaluer l'efficacité du rendement énergétique, (C perdu / énergie produite). Les flux de C sortant seraient à mettre en relations avec l'efficacité de la régénération du pouvoir oxydant, par mesure des concentrations racinaires en NADH / NAD⁺. Le suivi des concentrations en O₂ dans les racines et dans le milieu de culture sont également envisageable. Dans les racines d'adaptation, une oxygénation même partielle peut contribuer à améliorer le rendement énergétique et donc limiter les pertes de carbone.

Ces études permettraient de préciser le bilan carboné et d'en **caractériser les flux de carbone** qui varient selon la sensibilité des espèces et l'intensité du stress. A plus long terme, il serait possible de proposer un modèle intégrant ces flux de carbone.

XI. Références

bibliographiques

- Agarwal, S. et Grover, A. (2005). Isolation and transcription profiling of low-O₂ stress-associated cDNA clones from the flooding-stress-tolerant FR13A rice genotype. *Annals of Botany*, 96: 831-844.
- Agarwal, S. et Grover, A. (2006). Molecular biology, biotechnology and genomics of flooding-associated low O₂ stress response in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25: 1 - 21.
- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y. et Sakuratani, T. (2002). Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Science*, 163: 117-123.
- Akhtar, J., Gorham, J., Qureshi, R.H. et Aslam, M. (1998). Does tolerance of wheat to salinity and hypoxia correlate with root dehydrogenase activities or aerenchyma formation ? *Plant and Soil*, 201: 275-284.
- Alaoui-Sossé, B., Gérard, B., Binet, P., Toussaint, M.-L. et Badot, P.-M. (2005). Influence of flooding on growth, nitrogen availability in soil, and nitrate reduction of young oak seedlings (*Quercus robur* L.). *Annals of Forest Science*, 62: 593-600.
- Alaoui-Sossé, B., Parmentier, C., Dizengremel, P. et Barnola, P. (1994). Rhythmic growth and carbon allocation in *Quercus robur*. 1. Starch and sucrose. *Plant Physiology and Biochemistry*, 32: 331-339.
- Alaoui-Sossé, B., Ricaud, S., Barnola, P. et Dizengremel, P. (1996). Rhythmic growth and carbon allocation in *Quercus robur*. Sucrose metabolizing enzymes in leaves. *Physiologia Plantarum*, 96: 667-673.
- Alatou, D., Barnola, P., Lavarenne, S. et Gendraud, M. (1986). Caractérisation de la croissance rythmique du Chêne pédonculé. *Plant Physiology and Biochemistry*, 27: 275-280.
- Anderson, P.H. et Pezeshki, S.R. (2001). Effects of flood pre-conditioning on responses of three bottomland tree species to soil waterlogging. *Journal of Plant Physiology*, 158: 227-233.
- Anderson, P.H. et Pezeshki, S.R. (1999). The effects of intermittent flooding on seedlings of three forest species. *Photosynthetica*, 37: 543-552.
- Andrews, M. (1986). The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant, Cell & Environment*, 9: 511-519.
- Angelov, M.N., Sung, S.-J.S., Doong, R.L., Harms, W.R., Kormanik, P.P. et Black, C.C.J. (1996). Long- and short-term flooding effects on survival and sink-source relationships of swamp-adapted tree species. *Tree Physiology*, 16: 477-484.
- Arbona, V., Hossain, Z., López-Climent, M.F., Pérez-Clemente, R.M. et Gómez-Cadenas, A. (2008). Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus. *Physiologia Plantarum*, 132: 452-466.
- Armstrong, J., Afreen-Zobayed, F., Blyth, S. et Armstrong, W. (1999). *Phragmites australis*: effects of shoot submergence on seedling growth and survival and radial oxygen loss from roots. *Aquatic Botany*, 64: 275-289.
- Armstrong, W. et Armstrong, J. (2005). Stem photosynthesis not pressurized ventilation is responsible for light-enhanced oxygen supply to submerged roots of Alder (*Alnus glutinosa*). *Annals of Botany*, 96: 591-612.
- Armstrong, W., Brandle, R. et Jackson, M.B. (1994). Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, 43: 307-358.
- Arpagaus, S. et Braendle, R. (2000). The significance of α -amylase under anoxia stress in tolerant rhizomes (*Acorus calamus* L.) and non-tolerant tubers (*Solanum tuberosum* L., var. Désirée). *Journal of Experimental Botany*, 51: 1475-1477.

- Ashraf, M. et Rehman, H. (1999). Interactive effects of nitrate and long-term waterlogging on growth, water relations, and gaseous exchange properties of maize (*Zea mays* L.). *Plant Science*, 144: 35-43.
- Bacanamwo, M. et Purcell, L. (1999). Soybean dry matter and N accumulation responses to flooding stress, N sources and hypoxia. *Journal of Experimental Botany*, 50: 689-696.
- Bacilieri, R., Roussel, G. et Ducouso, A. (1993). Hybridization and mating system in a mixed stand of sessile and pedunculate oak. *Annals of Forest Science*, 50: 122s-127s.
- Badeau, V., Dambrine, E. et Walter, C. (1999). Propriétés des sols forestiers français : résultats du premier inventaire systématique. *Etude et gestion des sols*, 6: 165-180.
- Baker, T.T., Iii, Conner, W.H., Lockaby, B.G., Stanturf, J.A. et Burke, M.K. (2001). Fine root productivity and dynamics on a forested floodplain in South Carolina. *Soil Science Society of America Journal*, 65: 545-556.
- Barbaroux, C. et Bréda, N. (2002). Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, 21: 1201-1210.
- Barbaroux, C., Bréda, N. et Dufrêne, E. (2003). Distribution of above-ground and below-ground carbohydrate reserves in adult trees of two contrasting broad-leaved species (*Quercus petraea* and *Fagus sylvatica*). *New Phytologist*, 157: 605-615.
- Becker, M. et Lévy, G. (1986). Croissance radiale comparée de chênes adultes (*Quercus robur* L. et *Q. petraea* (Matt.) Liebl.) sur sol hydromorphe acide : effet du drainage. *Acta Oecologica*, 7: 121-143.
- Becker, M. et Lévy, G. (1990). Le point sur l'écologie comparée du chêne sessile et du chêne pédonculé. *Revue Forestière Française*, 42: 148-154.
- Becker, M., Lévy, G. et Lefèvre, Y. (1996). Radial growth of mature pedunculate and sessile oaks in response to drainage, fertilization and weeding on acid pseudogley soils. *Annals of Forest Science*, 53: 585-594.
- Bedell, J.-P. (1996). Purification, caractérisation et régulation de la glutamine synthétase racinaire chez le Douglas (*Pseudotsuga menziesii*). Etude de son activité dans les mycorhizes Douglas/*Laccaria bicolor*. Thèse de doctorat. In U.F.R. Sciences et Techniques Biologiques. pp. 169. Nancy I, France: Université Henri Poincaré.
- Bedell, J.-P., Chalot, M., Brun, A. et Botton, B. (1995). Purification and properties of glutamine synthetase from Douglas fir roots. *Physiologia Plantarum*, 94: 597-604.
- Biemelt, S., Keetman, U., Mock, H.-P. et Grimm, B. (2000). Expression and activity of isoenzymes superoxide dismutase in wheat roots in response to hypoxia and anoxia. *Plant, Cell and Environment*, 23: 135-144.
- Black, R.A. (1984). Water relations of *Quercus palustris*: field measurements on an experimentally flooded stand. *Oecologia*, 64: 14-20.
- Blokhina, O., Virolainen, E. et Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 91: 179-194.
- Blom, C.W.P.M. (1999). Adaptations to flooding stress: from plant community to molecule. *Plant Biology*, 1: 261-273.
- Blom, C.W.P.M. et Voeseek, L.A.C.J. (1996). Flooding: the survival strategies of plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 11: 290-295.

- Blom, C.W.P.M., Voeseek, L.A.C.J., Banga, M., Engelaar, W.M.H.G., Rijnders, J.H.G.M., Van De Steeg, H.M. et Visser, E.J.W. (1994). Physiological ecology of riverside species: adaptive responses of plants to submergence. *Annals of Botany*, 74: 253-263.
- Bodelier, P.L.E., Wijlhuizen, A.G., Blom, C.W.P.M. et Laanbroek, H.J. (1997). Effects of photoperiod on growth of and denitrification by *Pseudomonas chlororaphis* in the root zone of *Glyceria maxima*, studied in a gnotobiotic microcosm. *Plant and Soil*, 190: 91-103.
- Bonfil, C. (1998). The effects of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 85: 79-87.
- Bonneau, M. et Souchier, B. (1994). *Pédologie 2. Constituants et propriétés du sol*. Paris, Milan, Barcelone. 665 p.
- Botrel, A. et Kaiser, W.M. (1997). Nitrate reductase activation state in barley roots in relation to the energy and carbohydrate status. *Planta*, 201: 496-501.
- Bouny, J.M. et Saglio, P.H. (1996). Glycolytic flux and hexokinase activities in anoxic maize root tips acclimated by hypoxic pretreatment. *Plant physiology*, 111: 187-194.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Bréda, N., Cochard, H., Dreyer, E. et Granier, A. (1993). Field comparison, stomatal conductance and vulnerability to cavitation of *Quercus petraea* and *Quercus robur* under water stress. *Annals of Forest Science*, 50: 571-582.
- Brookes, P.C., Wigston, D.L. et Bourne, W.F. (1980). The dependence of *Quercus robur* and *Q. petraea* seedlings on cotyledon potassium, magnesium, calcium and phosphorus during the first year of growth. *Forestry*, 53: 167-177.
- Budke, J.C., Jarenkow, J.A. et De Oliveira-Filho, A.T. (2008). Tree community features of two stands of riverine forest under different flooding regimes in Southern Brazil. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 203: 162-174.
- Burke, M.K. et Chambers, J.L. (2003). Root dynamics in bottomland hardwood forests of the Southeastern United States Coastal Plain. *Plant and Soil*, 250: 141-153.
- Cao, F.L. et Conner, W.H. (1999). Selection of flood-tolerant *Populus deltoides* clones for reforestation projects in China. *Forest Ecology and Management*, 117: 211-220.
- Chang, W.W.P., Huang, L., Shen, M., Webster, C., Burlingame, A.L. et Roberts, J.K.M. (2000). Patterns of protein synthesis and tolerance of anoxia in root tips of maize seedlings acclimated to a low-oxygen environment, and identification of proteins by mass spectrometry. *Plant physiology*, 122: 295-318.
- Chapin, I.F.S. (1991). Integrated responses of plants to stress. A centralized system of physiological responses. *BioScience*, 41: 29-36.
- Chen, H. et Qualls, R.G. (2003). Anaerobic metabolism in the roots of seedlings of the invasive exotic *Lepidium latifolium*. *Environmental and Experimental Botany*, 50: 29-40.
- Chen, H., Qualls, R.G. et Blank, R.R. (2005). Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *Lepidium latifolium*. *Aquatic Botany*, 82: 250-268.
- Chen, H., Qualls, R.G. et Miller, G.C. (2002). Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. *Environmental and Experimental Botany*, 48: 119-128.

- Cochard, H., Bréda, N., Granier, A. et Aussenac, G. (1992). Vulnerability to air embolism of there European oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., *Quercus robur* L.). *Annals of Forest Science*, 49: 225-233.
- Colin-Belgrand, M., Dreyer, E. et Biron, P. (1991). Sensitivity of seedlings from different oak species to waterlogging: effects on root growth and mineral nutrition. *Annals of Forest Science*, 48: 193-204.
- Colmer, T.D. (2003). Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany*, 91: 301-309.
- Couée, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. et El Amrani, A. (2004). Involvement of polyamines in root development. *Plant cell, tissue and organ culture*, 76: 1-10.
- Crawford, L.A., Bown, A.W., Breikreuz, K.E. et Guinel, F.C. (1994). The synthesis of γ -aminobutyric acid in response to treatments reducing cytosolic pH. *Plant physiology*, 104: 865-871.
- Crawford, N.M. (2006). Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57: 471-478.
- Crawford, R.M.M., Jeffree, C.E. et Rees, W.G. (2003). Paludification and forest retreat in northern oceanic environments. *Annals of Botany*, 91: 213-226.
- Das, A. et Uchimiya, H. (2002). Oxygen stress and adaptation of a semi- aquatic plant: rice (*Oryza sativa*). *Journal of Plant Research*, 115: 315-320.
- Das, K.K., Sarkar, R.K. et Ismail, A.M. (2005). Elongation ability and non-structural carbohydrate levels in relation to submergence tolerance in rice. *Plant Science*, 168: 131-136.
- Dat, J.F., Capelli, N., Folzer, H., Bourgeade, P. et Badot, P.-M. (2004). Sensing and signalling during plant flooding. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 273-282.
- Dat, J.F., Folzer, H., Parent, C., Badot, P.-M. et Capelli, N. (2006). Hypoxia stress: current understanding and perspectives. In *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology. Advances and Topical Issues*. ed A., T.d.S.J. pp. 183-193. London, UK.
- De La Haba, P., Agüera, E., Benítez, L. et Maldonado, J.M. (2001). Modulation of nitrate reductase activity in cucumber (*Cucumis sativus*) roots. *Plant Science*, 161: 231-237.
- Debi, B.R., Taketa, S. et Ichii, M. (2005). Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Plant Physiology*, 162: 507-515.
- Dennis, E.S., Dolferus, R., Ellis, M., Rahman, M., Wu, Y., Hoeren, F.U., Grover, A., Ismond, K.P., Good, A.G. et Peacock, W.J. (2000). Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 51: 89-97.
- Dickson, R.E., Tomlinson, P.T. et Isebrands, J.G. (2000a). Allocation of current photosynthate and changes in tissue dry weight within northern red oak seedlings: individual leaf and flush carbon contribution during episodic growth. *Canadian Journal of Forest Research*, 30: 1296-1307.
- Dickson, R.E., Tomlinson, P.T. et Isebrands, J.G. (2000b). Partitioning of current photosynthate to different chemical fractions in leaves, stems, and roots of northern red oak seedlings during episodic growth. *Canadian Journal of Forest Research*, 30: 1308-1317.
- Dittert, K., Watzel, J. et Sattelmacher, B. (2006). Responses of *Alnus glutinosa* to anaerobic conditions - Mechanisms and rate of oxygen flux into the roots. *Plant Biology*, 8: 212-223.

- Dordas, C., Hasinoff, B.B., Igamberdiev, A.U., Manac'h, N., Rivoal, J. et Hill, R.D. (2003a). Expression of a stress-induced hemoglobin affects NO levels produced by alfalfa root cultures under hypoxic stress. *The Plant Journal*, 35: 763-770.
- Dordas, C., Rivoal, J. et Hill, R.D. (2003b). Plant haemoglobins, nitric oxide and hypoxic stress. *Annals of Botany*, 91: 173-178.
- Drew, M.C. (1997). Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 223-250.
- Drew, M.C., Cobb, B.G., Johnson, J.R., Andrews, D., Morgan, P.W., Jordan, W. et He, C.J. (1994). Metabolic acclimation of root tips to oxygen deficiency. *Annals of Botany*, 74: 281-286.
- Drew, M.C., He, C.-J. et Morgan, P.W. (2000). Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. *Trends in Plant Science*, 5: 123-127.
- Dreyer, E. (1994). Compared sensitivity of seedlings from 3 woody species (*Quercus robur* L, *Quercus rubra* L and *Fagus sylvatica* L) to water-logging and associated root hypoxia: effects on water relations and photosynthesis. *Annals of Forest Science*, 51: 417-429.
- Dreyer, E., Colin-Belgrand, M. et Biron, P. (1991). Photosynthesis and shoot water status of seedlings from different oak species submitted to waterlogging. *Annals of Forest Science*, 48: 205-214.
- Duchaufour, P. (2001). *Introduction à la science du sol ; sol, végétation, environnement*. Paris: Dunod. 331 p.
- Ducousso, A., Louvet, J.-M., Faucher, M., Legroux, P., Jarret, P. et Kremer, A. (2004). Révision des régions de provenance et peuplements sélectionnés : le cas des chênes pédonculé et sessile. *Rendez-vous techniques de l'ONF*, hors-série n°1: 33-42.
- Ducousso, A., Michaud, H. et Lumaret, R. (1993). Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Annals of Forest Science*, 50: 91s-106s.
- Dunn, G. (1974). A model for starch breakdown in higher plants. *Phytochemistry*, 13: 1341-1346.
- Dupouey, J.-L. et Badeau, V. (1993). Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd.) in northeastern France: preliminary results. *Annals of Forest Science*, 50: 35s-40s.
- Durner, J. et Klessig, D.F. (1999). Nitric oxide as a signal in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 369-374.
- Ellis, M.H., Dennis, E.S. et James Peacock, W. (1999). Arabidopsis roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. *Plant Physiol.*, 119: 57-64.
- Else, M.A., Coupland, D., Dutton, L. et Jackson, M.B. (2001). Decreased root hydraulic conductivity reduces leaf water potential, initiates stomatal closure and slows leaf expansion in flooded plants of castor oil (*Ricinus communis*) despite diminished delivery of ABA from the roots to shoots in xylem sap. *Physiologia Plantarum*, 111: 46-54.
- Else, M.A., Tiekstra, A.E., Croker, S.J., Davies, W.J. et Jackson, M.B. (1996). Stomatal closure in flooded tomato plants involves abscisic acid and a chemically unidentified anti-transpirant in xylem sap. *Plant physiology*, 112: 239-247.
- Epron, D. et Dreyer, E. (1993). Long-term effects of drought on photosynthesis of adult oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L.] in a natural stand. *The New Phytologist*, 125: 381-389.
- Epron, D. et Dreyer, E. (1996). Starch and soluble carbohydrates in leaves of water-stressed oak saplings. *Annals of Forest Science*, 53: 263-268.
- Evans, D.E. (2004). Aerenchyma formation. *New Phytologist*, 161: 35-49.

- Evans, N.H., Mcainsh, M.R. et Hetherington, A.M. (2001). Calcium oscillations in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 4: 415-420.
- Fan, T.W.-M., Higashi, R.M., Frenkiel, T.A. et Lane, A.N. (1997). Anaerobic nitrate and ammonium metabolism in flood-tolerant rice coleoptiles. *Journal of Experimental Botany*, 48: 1655-1666.
- Felle, H.H. (2005). pH regulation in anoxic plants. *Annals of Botany*, 96: 519-532.
- Fernandes, M.S. et Rossiello, R.O.P. (1995). Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14: 111-148.
- Fernandez, M.D. (2006). Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. *Photosynthetica*, 44: 32-38.
- Fernandez, M.D., Pieters, A., Donoso, C., Herrera, C., Tezara, W., Rengifo, E. et Herrera, A. (1999). Seasonal changes in photosynthesis of trees in the flooded forest of the Mapire River. *Tree Physiology*, 19: 79-85.
- Folzer, H. (2005). Approche moléculaire des réponses à l'ennoyage chez le Chêne sessile (*Quercus petraea* L.). Thèse de doctorat. In *U.F.R. Sciences et Techniques*. pp. 143. Besançon, France: Université de Franche-Comté.
- Folzer, H., Capelli, N., Dat, J. et Badot, P.-M. (2005). Molecular cloning and characterization of calmodulin genes in young oak seedlings (*Quercus petraea* L.) during early flooding stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1727: 213-219.
- Folzer, H., Dat, J.F., Capelli, N., Rieffel, D. et Badot, P.-M. (2006). Response of oak seedlings (*Quercus petraea*) to flooding: an integrated study. *Tree Physiology*, 26: 759-766.
- Foyer, C.H. (1988). Feedback inhibition of photosynthesis through source-sink. *Plant Physiology and Biochemistry*, 26: 483-492.
- Foyer, C.H. et Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*, 17: 1866-1875.
- Frost, I. et Rydin, H. (1997). Effects of competition, grazing and cotyledon nutrient supply on growth of *Quercus robur* seedlings. *Oikos*, 79: 53-58.
- Fukao, T. et Bailey-Serres, J. (2004). Plant responses to hypoxia - is survival a balancing act? *Trends in Plant Science*, 9: 449-456.
- Gallardo, F., Fu, J., Jing, Z.P., Kirby, E.G. et Cánovas, F.M. (2003). Genetic modification of amino acid metabolism in woody plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 587-594.
- García-Cebrián, F., Esteso-Martínez, J. et Gil-Pelegrín, E. (2003). Influence of cotyledon removal on early seedling growth in *Quercus robur* L. *Annals of Forest Science*, 60: 69-73.
- García-Sánchez, F., Syvertsen, J.P., Gimeno, V., Botía, P. et Perez-Perez, J.G. (2007). Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum*, 130: 532-542.
- Geigenberg, P. (2003). Response of plant metabolism to too little oxygen. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 247-256.
- Gérard, B. (2003). Effet de l'hypoxie sur la croissance et la nutrition minérale chez des jeunes plants de chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) : interaction avec la microflore du sol. In *DEA Environnement, Santé, Société*. pp. 30. Besançon: Université de Franche-Comté.
- Gibberd, M.R., Gray, J.D., Cocks, P.S. et Colmer, T.D. (2001). Waterlogging tolerance among a diverse range of *Trifolium* accessions is related to root porosity, lateral root formation and 'aerotropic rooting'. *Annals of Botany*, 88: 579-589.

- Gibbs, J. et Greenway, H. (2003). Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. *Functional Plant Biology*, 30: 1-47.
- Gladish, D.K., Xu, J. et Niki, T. (2006). Apoptosis-like programmed cell death occurs in procambium and ground meristem of Pea (*Pisum sativum*) root tips exposed to sudden flooding. *Annals of Botany*, 97: 895-902.
- Glenz, C., Schlaepfer, R., Iorgulescu, I. et Kienast, F. (2006). Flooding tolerance of Central European tree and shrub species. *Forest Ecology and Management*, 235: 1-13.
- Gobat, J.-M., Aragno, M. et Matthey, W. (2003). *Le sol vivant*. Lausanne: Presse polytechniques et universitaires romandes. 568 p.
- Good, A.G. et Muench, D.G. (1993). Long-term anaerobic metabolism in root tissue (metabolic products of pyruvate metabolism). *Plant physiology*, 101: 1163-1168.
- Gout, E., Boisson, A.-M., Aubert, S., Douce, R. et Bligny, R. (2001). Origin of the cytoplasmic pH changes during anaerobic stress in higher plant cells. Carbon-13 and phosphorous-31 nuclear magnetic resonance studies. *Plant physiology*, 125: 912-925.
- Gravatt, D.A. et Kirby, C.J. (1998). Patterns of photosynthesis and starch allocation in seedlings of four bottomland hardwood tree species subjected to flooding. *Tree Physiology*, 18: 411-417.
- Greenway, H. et Gibbs, J. (2003). Mechanisms of anoxia tolerance in plants. II. Energy requirements for maintenance and energy distribution to essential process. *Functional Plant Biology*, 30: 999-1036.
- Grichko, V.P. et Glick, B.R. (2001). Ethylene and flooding stress in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39: 1-9.
- Groh, B., Hübner, C. et Lendzian, K.J. (2002). Water and oxygen permeance of phellemis isolated from trees: the role of waxes and lenticels. *Planta*, 215: 794-801.
- Guglielminetti, L., Loreti, E., Perata, P. et Alpi, A. (1999). Sucrose synthesis in cereal grains under oxygen deprivation. *Journal of Plant Research*, 112: 353-359.
- Guglielminetti, L., Perata, P. et Alpi, A. (1995a). Effect of anoxia on carbohydrate metabolism in rice seedlings. *Plant Physiology*, 108: 735-741.
- Guglielminetti, L., Yamaguchi, J., Perata, P. et Alpi, A. (1995b). Amylolytic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. *Plant Physiology*, 109: 1069-1076.
- Guignard, J.-L. (2000). *Biochimie végétale*. Paris. 274 p.
- Gunawardena, A.H.L.A.N., Pearce, D.M., Jackson, M.B., Hawes, C.R. et Evans, D.E. (2001). Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays* L.). *Planta*, 212: 205-214.
- Guo, Y., Shelton, M. et Lockhart, B.R. (1998). Effects of flood duration and season on germination of black, cherrybark, northern red, and water oak acorns. *New Forests*, 15: 69-76.
- Gupta, K.J., Stoimenova, M. et Kaiser, W.M. (2005). In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, in vitro and in situ. *Journal of Experimental Botany*, 56: 2601-2609.
- Gutierrez Boem, F.H., Lavado, R.S. et Porcelli, C.A. (1996). Note on the effects of winter and spring waterlogging on growth, chemical composition and yield of rapeseed. *Field Crops Research*, 47: 175-179.
- Haase, K., De Simone, O., Junk, W.J. et Schmidt, W. (2003). Internal oxygen transport in cuttings from flood-adapted várzea tree species. *Tree Physiology*, 23: 1069-1076.

- Hanson, P.J., Dickson, R.E., Isebrands, J.G., Crow, T.R. et Dixon, R.K. (1986). A morphological index of *Quercus* seedling ontogeny for use in studies of physiology and growth. *Tree Physiology*, 2: 273-281.
- Harada, T. et Ishizawa, K. (2003). Starch degradation and sucrose metabolism during anaerobic growth of pondweed (*Potamogeton distinctus* A. Benn.) turions. *Plant and Soil*, 253: 125-135.
- Heizmann, U., Kreuzwieser, J., Schnitzler, J.-P., Brüggemann, N. et Rennenberg, H. (2001). Assimilate transport in the xylem sap of pedunculate Oak (*Quercus robur*) saplings. *Plant Biology*, 3: 132-138.
- Ho, S.-L., Chao, Y.-C., Tong, W.-F. et Yu, S.-M. (2001). Sugar coordinately and differentially regulates growth- and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. *Plant Physiology*, 125: 877-890.
- Hsu, Y.-M., Tseng, M.-J. et Lin, C.-H. (1999). The fluctuation of carbohydrates and nitrogen compounds in flooded wax-apple trees. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 40: 193-198.
- Huang, B. et Johnson, J.W. (1995). Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Annals of Botany*, 75: 427-432.
- Igamberdiev, A.U., Baron, K., Manac'h-Little, N., Stoimenova, M. et Hill, R.D. (2005). The haemoglobin/nitric oxide cycle: involvement in flooding stress and effects on hormone signalling. *Annals of Botany*, 96: 557-564.
- Igamberdiev, A.U. et Hill, R.D. (2004). Nitrate, NO and haemoglobin in plant adaptation to hypoxia: an alternative to classic fermentation pathways. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2473-2482.
- Islam, M.A. et Macdonald, S.E. (2004). Ecophysiological adaptations of black spruce (*Picea mariana*) and tamarack (*Larix laricina*) seedlings to flooding. *Trees*, 18: 35-42.
- Ismail, M.R. et Noor, K.M. (1996). Growth and physiological processes of young starfruit (*Averrhoa carambola* L.) plants under soil flooding. *Scientia Horticulturae*, 65: 229-238.
- Ito, O., Ella, E. et Kawano, N. (1999). Physiological basis of submergence tolerance in rainfed lowland rice ecosystem. *Field Crops Research*, 64: 75-90.
- Iwanaga, F. et Yamamoto, F. (2008). Effects of flooding depth on growth, morphology and photosynthesis in *Alnus japonica* species. *New Forests*, 35: 1-14.
- Jackson, M.B. (1990). Hormones and developmental change in plants subjected to submergence or soil waterlogging. *Aquatic Botany*, 38: 49-72.
- Jackson, M.B. (2002). Long-distance signalling from roots to shoots assessed: the flooding story. *Journal of Experimental Botany*, 53: 175-181.
- Jackson, M.B. et Armstrong, W. (1999). Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. *Plant Biology*, 1: 274-287.
- Jackson, M.B. et Attwood, P.A. (1996). Roots of willow (*Salix viminalis* L.) show marked tolerance to oxygen shortage in flooded soils and in solution culture. *Plant and Soil*, 187: 37-45.
- Jackson, M.B., Davies, W.J. et Else, M.A. (1996). Pressure-flow relationships, xylem solutes and root hydraulic conductance in flooded tomato plants. *Annals of Botany*, 77: 17-24.
- Jackson, M.B., Saker, L.R., Crisp, C.M., Else, M.A. et Janowiak, F. (2003). Ionic and pH signalling from roots to shoots of flooded tomato plants in relation to stomatal closure. *Plant and Soil*, 253: 103-113.
- Jones, M.G.K., Outlaw, W.H.J. et Lowry, O.H. (1977). Enzymic assay of 10^{-7} to 10^{-14} moles of sucrose in plant tissues. *Plant Physiology*, 60: 379-383.

- Kabeya, D. et Sakai, S. (2003). The role of roots and cotyledons as storage organs in early stages of establishment in *Quercus crispula*: a quantitative analysis of the nonstructural carbohydrate in cotyledons and roots. *Annals of Botany*, 92: 537-545.
- Kaelke, C.M. et Dawson, J.O. (2003). Seasonal flooding regimes influence survival, nitrogen fixation, and the partitioning of nitrogen and biomass in *Alnus incana* ssp. *rugosa*. *Plant and Soil*, 254: 167-177.
- Kaiser, W.M. et Huber, S.C. (1997). Correlation between apparent activation state of nitrate reductase (NR), NR hysteresis and degradation of NR protein. *Journal of Experimental Botany*, 48: 1367-1374.
- Kaiser, W.M. et Huber, S.C. (2001). Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. *Journal of Experimental Botany*, 52: 1981-1989.
- Kaiser, W.M., Weiner, H. et Huber, S.C. (1999). Nitrate reductase in higher plants: a case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity. *Physiologia Plantarum*, 105: 384-389.
- Kaiser, W.M., Weiner, H., Kandlbinder, A., Tsai, C.-B., Rockel, P., Sonoda, M. et Planchet, E. (2002). Modulation of nitrate reductase: some new insights, an unusual case and a potentially important side reaction. *Journal of Experimental Botany*, 53: 875-882.
- Kato-Noguchi, H. (2000). Absciscic acid and hypoxic induction of anoxia tolerance in roots of lettuce seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1939-1944.
- Kato-Noguchi, H. (2006). Pyruvate metabolism in rice coleoptiles under anaerobiosis. *Plant Growth Regulation*, 50: 41-46.
- Kato-Noguchi, H. et Macías, F.A. (2005). Effects of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the germination and α -amylase activity in lettuce seeds. *Journal of Plant Physiology*, 162: 1304-1307.
- Kato-Noguchi, H. et Morokuma, M. (2007). Ethanolic fermentation and anoxia tolerance in four rice cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 164: 168-173.
- Kato-Noguchi, H. et Ohashi, C. (2006). Effects of anoxia on amino acid levels in rice coleoptiles. *Plant Production Science*, 9: 383-387.
- Kato-Noguchi, H., Sasaki, R. et Yasuda, Y. (2008). Anoxia tolerance and α -amylase activity in four rice cultivars. *Plant Growth Regulation*, 55: 35-41.
- Kleinschmit, J. (1993). Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species. *Annals of Forest Science*, 50: 166s-185s.
- Klok, E.J., Wilson, I.W., Wilson, D., Chapman, S.C., Ewing, R.M., Somerville, S.C., Peacock, W.J., Dolferus, R. et Dennis, E.S. (2002). Expression profile analysis of the low-oxygen response in *Arabidopsis* root cultures. *Plant Cell*, 14: 2481-2494.
- Koch, K. (2004). Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 235-246.
- Koch, K.E. (1996). Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47: 509-540.
- Koch, K.E., Ying, Z., Wu, Y. et Avigne, W.T. (2000). Multiple paths of sugar-sensing and a sugar/oxygen overlap for genes of sucrose and ethanol metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 51: 417-427.
- Kogawara, S., Yamanoshita, T., Norisada, M., Masumori, M. et Kojima, K. (2006). Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant

- species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. *Tree Physiology*, 26: 1413-1423.
- Koppitz, H. (2004). Effects of flooding on the amino acid and carbohydrate patterns of *Phragmites australis*. *Limnologia - Ecology and Management of Inland Waters*, 34: 37-47.
- Kozlowski, T.T. (2002). Physiological-ecological impacts of flooding on riparian forest ecosystems. *Wetlands*, 22: 550-561.
- Kozlowski, T.T. (1997). Responses of woody plants to flooding and salinity. In *Tree Physiology Monograph*. pp. 1-29. Victoria, Canada: Heron.
- Kozlowski, T.T. (1982). Water supply and tree growth. Part II Flooding. *Forest Abstracts*, 43: 145-162.
- Kramer, K., Vreugdenhil, S.J. et Van Der Werf, D.C. (2008). Effects of flooding on the recruitment, damage and mortality of riparian tree species: a field and simulation study on the Rhine floodplain. *Forest Ecology and Management*, 255: 3893-3903.
- Kremer, A., Dupouey, J.L., Deans, J.D., Cottrell, J., Csaikl, U., Finkeldey, R., Espinel, S., Jensen, J., Kleinschmit, J., Van Dam, B., Ducoussou, A., Forrest, I., De Heredia, U.L., Lowe, A.J., Tutkova, M., Munro, R.C., Steinhoff, S. et Badeau, V. (2002). Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oak stands. *Annals of Forest Science*, 59: 777-787.
- Kreuzwieser, J., Fűrnis, S. et Rennenberg, H. (2002). Impact of waterlogging on the N-metabolism of flood tolerant and non-tolerant tree species. *Plant, Cell and Environment*, 25: 1039-1049.
- Kreuzwieser, J., Harren, F.J.M., Laarhoven, L.J.J., Boamfa, I., Te Lintel-Hekkert, S., Scheerer, U., Hüglin, C. et Rennenberg, H. (2001). Acetaldehyde emission by the leaves of trees - correlation with physiological and environmental parameters. *Physiologia Plantarum*, 113: 41-49.
- Kreuzwieser, J., Kühnemann, F., Martis, A., Rennenberg, H. et Urban, W. (2000). Diurnal pattern of acetaldehyde emission by flooded poplar trees. *Physiologia Plantarum*, 108: 79-86.
- Kreuzwieser, J., Papadopoulou, E. et Rennenberg, H. (2004). Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. *Plant Biology*, 6: 299-306.
- Kreuzwieser, J., Scheerer, U. et Rennenberg, H. (1999). Metabolic origin of acetaldehyde emitted by poplar (*Populus tremula* x *P. alba*) trees. *Journal of Experimental Botany*, 50: 757-765.
- Kulichikhin, K.Y., Aitio, O., Chirkova, T.V. et Fagerstedt, K.V. (2007). Effect of oxygen concentration on intracellular pH, glucose-6-phosphate and NTP content in rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticum aestivum*) root tips: in vivo ³¹P-NMR study. *Physiologia Plantarum*, 129: 507-518.
- Laan, P., Clement, J.M.A.M. et Blom, C.W.P.M. (1991). Growth and development of *Rumex* roots as affected by hypoxic and anoxic conditions. *Plant and Soil*, 136: 145-151.
- Lefebvre-Drouet, E. et Rousseau, M.F. (1995). Dissolution de différents oxyhydroxides de fer par voie chimique et par voie biologique : importance des bactéries réductrices. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 1041-1050.
- Lévy, G., Becker, M. et Duhamel, D. (1992). A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: Radial growth in the centre and northwest of France. *Forest Ecology and Management*, 55: 51-63.
- Lévy, G. et Lefèvre, Y. (2001). *La forêt et sa culture sur sol à nappe temporaire*. Nancy: ENGREF. 223 p.

- Li, S., Pezeshki, S.R. et Shields, J.F.D. (2006). Partial flooding enhances aeration in adventitious roots of black willow (*Salix nigra*) cuttings. *Journal of Plant Physiology*, 163: 619-628.
- Liao, C.T. et Lin, C.H. (1994). Effect of flooding stress on photosynthetic activities of *Mormodica charantia*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 32: 479-485.
- Libourel, I.G.L., Van Bodegom, P.M., Fricker, M.D. et Ratcliffe, R.G. (2006). Nitrite reduces cytoplasmic acidosis under anoxia. *Plant physiology*, 142: 1710-1717.
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology*. ed Jakoby, W.B. pp. 350-382. New York: Academic Press.
- Lin, K.-H.R., Weng, C.-C., Lo, H.-F. et Chen, J.-T. (2004). Study of the root antioxidative system of tomatoes and eggplants under waterlogged conditions. *Plant Science*, 167: 355-365.
- Liu, F., Vantoai, T., Moy, L.P., Bock, G., Linfood, L.D. et Quackenbush, J. (2005). Global transcription profiling reveals comprehensive insights into hypoxic response in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 137: 1115-1129.
- Liu, J.H. et Reid, D.M. (1992). Auxin and ethylene-stimulated adventitious rooting in relation to tissue sensitivity to auxin and ethylene production in sunflower hypocotyls. *Journal of Experimental Botany*, 43: 1191-1198.
- Locke, J.M., Bryce, J.H. et Morris, P.C. (2000). Contrasting effects of ethylene perception and biosynthesis inhibitors on germination and seedling growth of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Experimental Botany*, 51: 1843-1849.
- Long, T.J. et Jones, R.H. (1996). Seedling growth strategies and seed size effects in fourteen oak species native to different soil moisture habitats. *Trees*, 11: 1-8.
- Lopez, O.R. et Kursar, T.A. (1999). Flood tolerance of four tropical tree species. *Tree Physiology*, 19: 925-932.
- Loreti, E., Alpi, A. et Perata, P. (2003a). α -amylase expression under anoxia in rice seedlings: an update. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50: 737-743.
- Loreti, E., Yamaguchi, J., Alpi, A., Alpi, A., Loreti, E., Yamaguchi, J. et Perata, P. (2003b). Gibberellins are not required for rice germination under anoxia. *Plant and Soil*, 253: 137-143.
- Loreti, E., Yamaguchi, J., Alpi, A. et Perata, P. (2003c). Sugar modulation of α -amylase genes under anoxia. *Annals of Botany*, 91: 143-148.
- Loulakakis, K.A. et Roubelakis-Angelakis, K.A. (1996). Characterization of *Vitis vinifera* L. glutamine synthetase and molecular cloning of cDNAs for the cytosolic enzyme. *Plant Molecular Biology*, 31: 983-992.
- Lucot, E. et Bruckert, S. (1992). Organisation du système racinaire du chêne pédonculé (*Quercus robur*) développé en conditions édaphiques non contraignantes (sol brun lessivé colluvial). *Annals of Forest Science*, 49: 465-479.
- Mancuso, S. et Marras, A.M. (2003). Different pathways of the oxygen supply in the sapwood of young *Olea europaea* trees. *Planta*, 216: 1028-1033.
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. London: Harcourt Brace & Company. 889 p.
- Martin-Tanguy, J. (2001). Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regulation*, 34: 135-148.
- Mattana, M., Bertini, F., Bertani, A. et Reggiani, R. (1997). Nitrate assimilation under anoxia in rice. *Russian Journal of Plant Physiology*, 44: 475-478.
- Mattana, M., Brambilla, I., Bertani, A. et Reggiani, R. (1996). Expression of nitrogen assimilating enzymes in germinating rice under anoxia. *Plant Physiology and Biochemistry*, 34: 653-657.

- Mcdonald, M.P., Galwey, N.W. et Colmer, T.D. (2002). Similarity and diversity in adventitious root anatomy as related to root aeration among a range of wetland and dryland grass species. *Plant, Cell and Environment*, 25: 441-451.
- Mcdonald, M.P., Galwey, N.W. et Colmer, T.D. (2001). Waterlogging tolerance in the tribe *Triticeae*: the adventitious roots of *Critesion marimum* have a relatively high porosity and a barrier to radial oxygen loss. *Plant, Cell and Environment*, 24: 585-596.
- Mcleod, K.W., Mccarron, J.K. et Conner, W.H. (1999). Photosynthesis and water relations of four oak species: impact of flooding and salinity. *Trees*, 13: 178-187.
- Mergemann, H. et Sauter, M. (2000). Ethylene induces epidermal cell death at the site of adventitious root emergence in rice. *Plant physiology*, 124: 609-614.
- Mielke, M.S., De Almeida, A.-A.F., Gomes, F.P., Aguilar, M.A.G. et Mangabeira, P.A.O. (2003). Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 50: 221-231.
- Mielke, M.S., De Almeida, A.-A.F., Gomes, F.P., Mangabeira, P.A.O. et Silva, D.D.C. (2005). Effects of soil flooding on leaf gas exchange and growth of two neotropical pioneer tree species. *New Forests*, 29: 161-168.
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Biochemistry*, 31: 426-428.
- Moore, S. et Stein, W.H. (1954). A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and a related compounds. *The Journal of biological chemistry*, 211: 907-913.
- Morard, P., Silvestre, J., Lacoste, L., Caumes, E. et Lamaze, T. (2004). Nitrate uptake and nitrite release by tomato roots in response to anoxia. *Journal of Plant Physiology*, 161: 855-865.
- Morot-Gaudry, J.F. (1997). *Assimilation de l'azote chez les plantes. Aspects physiologique, biochimique et moléculaire*. Paris: INRA. 422 p.
- Müller, E., Albers, B.P. et Janiesch, P. (1994). Influence of NO_3^- and NH_4^+ nutrition on fermentation, nitrate reductase activity and adenylate energy charge of roots of *Carex pseudocyperus* L. and *Carex sylvatica* Huds. exposed to anaerobic nutrient solutions. *Plant and Soil*, 166: 221-230.
- Mustroph, A. et Albrecht, G. (2007). Fermentation metabolism in roots of wheat seedlings after hypoxic pre-treatment in different anoxic incubation systems. *Journal of Plant Physiology*, 164: 394-407.
- Mustroph, A. et Albrecht, G. (2003). Tolerance of crop plants to oxygen deficiency stress: fermentative activity and photosynthetic capacity of entire seedlings under hypoxia and anoxia. *Physiologia Plantarum*, 117: 508-520.
- Nguyen, P.V., Dickmann, D.I., Pregitzer, K.S. et Hendrick, R. (1990). Late season changes in allocation of starch and sugar to shoot, coarse roots, and fine roots in two hybrid poplar clones. *Tree Physiology*, 7: 95-105.
- Nicolás, E., Torrecillas, A., Dell' Amico, J. et Alarcón, J.J. (2005). The effect of short-term flooding on the sap flow, gas exchange and hydraulic conductivity of young apricot trees. *Trees*, 19: 51-57.
- Niki, T. et Gladish, D.K. (2001). Changes in growth and structure of Pea primary roots (*Pisum sativum* L. cv. Alaska) as a result of sudden flooding. *Plant and Cell Physiology*, 42: 694-702.
- Nixon, K.C. (1993). Infrageneric classification of *Quercus* (*Fagaceae*) and typification of sectional names. *Annals of Forest Science*, 50: 25s-34s.
- Oaks, A. (1994). Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. *Canadian Journal of Botany*, 72: 739-750.

- Oorschot, M., Gaalen, N., Maltby, E., Mockler, N., Spink, A. et Verhoeven, J.T.A. (2000). Experimental manipulation of water levels in two French riverine grassland soils. *Acta Oecologica*, 21: 49-62.
- Outlaw, W.H. et Manchester, J. (1979). Guard cell starch concentration quantitatively related to stomatal aperture. *Plant Physiology*, 64: 79-82.
- Parelle, J. (2006). Réponses de jeunes chênes de deux espèces (*Quercus robur* L., *Q. petraea* [Matt] Liebl.) à l'hypoxie racinaire : marqueurs physiologiques, moléculaires et génétiques de sensibilité et application à la comparaison des deux espèces. Thèse de doctorat. In U.F.R. *Sciences et Techniques Biologiques*. pp. 171. Nancy I, France: Université Henri Poincaré.
- Parelle, J., Brendel, O., Bodénès, C., Berveiller, D., Dizengremel, P., Jolivet, Y. et Dreyer, E. (2006). Differences in morphological and physiological responses to water-logging between two sympatric oak species (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl., *Quercus robur* L.). *Annals of Forest Science*, 63: 849-859.
- Parelle, J., Brendel, O., Jolivet, Y. et Dreyer, E. (2007a). Intra- and interspecific diversity in the response to waterlogging of two co-occurring white oak species (*Quercus robur* and *Q. petraea*). *Tree Physiology*, 27: 1027-1034.
- Parelle, J., Zapater, M., Scotti-Saintagne, C., Kremer, A., Jolivet, Y., Dreyer, E. et Brendel, O. (2007b). Quantitative trait loci of tolerance to waterlogging in a European oak (*Quercus robur* L.): physiological relevance and temporal effect patterns. *Plant, Cell & Environment*, 30: 422-434.
- Parent, C., Berger, A., Folzer, H., Dat, J., Crevecoeur, M., Badot, P.-M. et Capelli, N. (2008). A novel nonsymbiotic hemoglobin from oak: cellular and tissue specificity of gene expression. *New Phytologist*, 177: 142-154.
- Parmentier, C. (1993). Etude physiologique et biochimique de la croissance rythmique endogène du Chêne pédonculé. Recherche de son déterminisme. Thèse de doctorat. In U.F.R. *Sciences et Techniques Biologiques*. pp. 85. Nancy I, France: Henri Poincaré.
- Parolin, P. (2001a). Morphological and physiological adjustments to waterlogging and drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. *Oecologia*, 128: 326-335.
- Parolin, P. (2001b). Seed germination and early establishment of 12 tree species from nutrient-poor Central Amazonian floodplains. *Aquatic Botany*, 70: 89-103.
- Parolin, P. (2002). Submergence tolerance vs. escape from submergence: two strategies of seedling establishment in Amazonian floodplains. *Environmental and Experimental Botany*, 48: 177-186.
- Parolin, P., Ferreira, L.V., Albernaz, A.L.K.M. et Almeida, S.S. (2004). Tree species distribution in *Várzea* forests of Brazilian Amazonia. *Folia Geobotanica*, 39: 371-383.
- Paul, A.-L., Schuerger, A.C., Popp, M.P., Richards, J.T., Manak, M.S. et Ferl, R.J. (2004). Hypobaric biology: *arabidopsis* gene expression at low atmospheric pressure. *Plant physiology*, 134: 215-223.
- Pedersen, O., Vos, H. et Colmer, T.D. (2006). Oxygen dynamics during submergence in the halophytic stem succulent *Halosarcia pergranulata*. *Plant, Cell and Environment*, 29: 1388-1399.
- Pelmont, J. (1993). *Bactéries et environnement, adaptations physiologiques*. Grenoble: Presses universitaires de Grenoble. 899 p.
- Peng, H.-P., Chan, C.-S., Shih, M.-C. et Yang, S.F. (2001). Signaling events in the hypoxic induction of alcohol dehydrogenase gene in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 126: 742-749.

- Pennington, M.R. et Walters, M.B. (2006). The response of planted trees to vegetation zonation and soil redox potential in created wetlands. *Forest Ecology and Management*, 233: 1-10.
- Perata, P., Guglielminetti, L. et Alpi, A. (1996). Anaerobic carbohydrate metabolism in wheat and barley, two anoxia-intolerant cereal seeds. *Journal of Experimental Botany*, 47: 999-1006.
- Perata, P., Guglielminetti, L. et Alpi, A. (1997). Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Annals of Botany*, 79 (Supplement A): 49-56.
- Perata, P., Pozueta-Romero, J., Akazawa, T. et Yamaguchi, J. (1992). Effect of anoxia on starch breakdown in rice and wheat seeds. *Planta*, 188: 611-618.
- Perazzolli, M., Dominici, P., Romero-Puertas, M.C., Zago, E., Zeier, J., Sonoda, M., Lamb, C. et Delledonne, M. (2004). Arabidopsis nonsymbiotic hemoglobin AHb1 modulates nitric oxide bioactivity. *Plant Cell*, 16: 2785-2794.
- Pezeshki, S.R. (1997). Photosynthesis and root growth in *Spartina alterniflora* in relation to root zone aeration. *Photosynthetica*, 34: 107-114.
- Pezeshki, S.R. (1994). Responses of Baldcypress (*Taxodium distichum*) seedlings to hypoxia: leaf protein content, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase activity and photosynthesis. *Photosynthetica*, 30: 59-68.
- Pezeshki, S.R. (2001). Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 46: 299-312.
- Pezeshki, S.R. et Anderson, P.H. (1997). Responses of three bottomland species with different flood tolerance capabilities to various flooding regimes. *Wetlands Ecology and Management*, 4: 245-256.
- Pezeshki, S.R. et Delaune, R.D. (1998). Responses of seedlings of selected woody species to soil oxidation-reductions. *Environmental and Experimental Botany*, 40: 123-133.
- Pezeshki, S.R., Delaune, R.D. et Anderson, P.H. (1999). Effects of flooding on elemental uptake and biomass allocation in seedlings of three bottomland tree species. *Journal of Plant Nutrition*, 22: 1481-1494.
- Pezeshki, S.R., Delaune, R.D., Kludze, H.K. et Choi, H.S. (1996a). Photosynthetic and growth responses of cattail (*Typha domingensis*) and sawgrass (*Cladium jamaicense*) to soil redox conditions. *Aquatic Botany*, 54: 25-35.
- Pezeshki, S.R., Pardue, J.H. et Delaune, R.D. (1996b). Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. *Tree Physiology*, 16: 453-458.
- Pezeshki, S.R. et Santos, M.I. (1998). Relationships among rhizosphere oxygen deficiency, root restriction, photosynthesis, and growth in Baldcypress (*Taxodium Distichum* L.) seedlings. *Photosynthetica*, 35: 381-390.
- Pierik, R., Sasidharan, R. et Voesenek, L. (2007). Growth control by ethylene: adjusting phenotypes to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26: 188-200.
- Pierik, R., Tholen, D., Poorter, H., Visser, E.J.W. et Voesenek, L.A.C.J. (2006). The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. *Trends in Plant Science*, 11: 176-183.
- Planchet, E., Jagadis Gupta, K., Sonoda, M. et Kaiser, W.M. (2005). Nitric oxide emission from tobacco leaves and cell suspensions: rate limiting factors and evidence for the involvement of mitochondrial electron transport. *The Plant Journal*, 41: 732-743.
- Ponton, S., Dupouey, J.-L., Breda, N., Feuillat, F., Bodénès, C. et Dreyer, E. (2001). Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant, Cell and Environment*, 24: 861-868.

- Ponton, S., Dupouey, J.-L. et Dreyer, E. (2004). Leaf morphology as species indicator in seedlings of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl.: modulation by irradiance and growth flush. *Annals of Forest Science*, 61: 73-80.
- Poot, P. et Lambers, H. (2003). Growth responses to waterlogging and drainage of woody *Hakea* (Proteaceae) seedlings, originating from contrasting habitats in south-western Australia. *Plant and Soil*, 253: 57-70.
- Prade, K. et Trolldenier, G. (1990a). Denitrification in the rhizosphere of plants with inherently different aerenchyma formation: Wheat (*Triticum aestivum*) and rice (*Oryza sativa*). *Biology and Fertility of Soils*, 9: 215-219.
- Prade, K. et Trolldenier, G. (1990b). Denitrification in the rhizosphere of rice and wheat seedlings as influenced by plant K status, air-filled porosity and substrate organic matter. *Biochemistry*, 22: 769-773.
- Pregnall, A.M. (2004). Effects of aerobic versus anoxic conditions on glutamine synthetase activity in eelgrass (*Zostera marina* L.) roots: regulation of ammonium assimilation potential. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 311: 11-24.
- Preney, S., Bonvicini, M.P. et Conche, J. (1997). La récolte des glands de chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et de chêne sessile (*Quercus petraea* Liebl.) à l'Office National des Forêts. *ONF Bulletin Technique*, 33: 21-32.
- Pu, G., Saffigna, P.G. et Strong, W.M. (1999). Potential for denitrification in cereal soils of northern Australia after legume or grass-legume pastures. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 667-675.
- Puiatti, M. et Sodek, L. (1999). Waterlogging affects nitrogen transport in the xylem of soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37: 767-773.
- Quantin, C., Becquer, T., Rouiller, J.H. et Berthelin, J. (2001). Oxide weathering and trace metal release by bacterial reduction in a New Caledonia Ferralsol. *Biogeochemistry*, 53: 323-340.
- Rameau, J.-C., Mansion, D., Dumé, G., Lecointe, A., Dupont, P., Keller, R. et Timbal, J. (1993). *Flore Forestière Française guide écologique illustré - plaines et collines*. Paris. 1786 p.
- Ratcliffe, R.G. (1997). *In vivo* NMR studies of the metabolic response of plant tissues to anoxia. *Annals of Botany*, 79: 39-48.
- Reggiani, R. et Bertani, A. (2003). Anaerobic amino acid metabolism. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50: 733-736.
- Reggiani, R., Mattana, M., Aurisano, N. et Bertani, A. (1993). Utilization of stored nitrate during the anaerobic germination of rice seeds. *Plant and Cell Physiology*, 34: 379-383.
- Reggiani, R., Nebuloni, M., Mattana, M. et Brambilla, I. (2000). Anaerobic accumulation of amino acids in rice roots: role of the glutamine synthetase/glutamate synthase cycle. *Amino Acids*, 18: 207-217.
- Rengifo, E., Tezara, W. et Herrera, A. (2005). Water relations, chlorophyll *a* fluorescence, and contents of saccharides in tree species of a tropical forest in response to flood. *Photosynthetica*, 43: 203-210.
- Ricard, B., Couée, I., Raymond, P., Saglio, P.H., Saint-Ges, V. et Pradet, A. (1994). Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiology and Biochemistry*, 32: 1-10.
- Rockel, P., Strube, F., Rockel, A., Wildt, J. et Kaiser, W.M. (2002). Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Experimental Botany*, 53: 103-110.
- Roitsch, T. et Ehneß, R. (2000). Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regulation*, 32: 359-367.

- Ruiz-Sánchez, M.C., Domingo, R., Morales, D. et Torrecillas, A. (1996). Water relations of Fino lemon plants on two rootstocks under flooded conditions. *Plant Science*, 120: 119-125.
- Sachs, M.M., Subbaiah, C.C. et Saab, I.N. (1996). Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *Journal of Experimental Botany*, 47: 1-15.
- Saint-Ges, V., Roby, C., Bligny, R., Pradet, A. et Douce, R. (1991). Kinetic studies of the variations of cytoplasmic pH, nucleotide triphosphates (^{31}P -NMR) and lactate during normoxic and anoxic transitions in maize root tips. *European Journal of Biochemistry*, 200: 477-482.
- Santiago, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Fownes, J.H. et Mueller-Dombois, D. (2000). Transpiration and forest structure in relation to soil waterlogging in a Hawaiian montane cloud forest. *Tree Physiology*, 20: 673-681.
- Santos, H.P. et Buckeridge, M.S. (2004). The role of the storage carbon of cotyledons in the establishment of seedlings of *Hymenaea courbaril* under different light conditions. *Annals of Botany*, 94: 819-830.
- Schlüter, U. et Crawford, R.M.M. (2001). Long-term anoxia tolerance in leaves of *Acorus calamus* L. and *Iris pseudacorus* L. *Journal of Experimental Botany*, 52: 2213-2225.
- Schlüter, U. et Crawford, R.M.M. (2003). Metabolic adaptation to prolonged anoxia in leaves of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*). *Physiologia Plantarum*, 117: 492-499.
- Schmull, M. et Thomas, F.M. (2000). Morphological and physiological reactions of young deciduous trees (*Quercus robur* L., *Q. Petraea* [Matt.] Liebl., *Fagus sylvatica* L.) to waterlogging. *Plant and Soil*, 225: 227-242.
- Scuiller, I. (1990). Exploration de la variabilité des comportements écophysologiques de semis de chênes blancs européens soumis à la sécheresse. Thèse de doctorat. In *U.F.R. Sciences et Techniques Biologiques*. pp. 76. Nancy I, France: Université Henri Poincaré.
- Sedjo, R. et Sohngen, B. (1998). Impacts of climate change on forests. *RFF Climate Issue Brief*, 9: 1-8.
- Setter, T.L., Ellis, M., Laureles, E.V., Ella, E.S., Senadhira, D., Mishra, S.B., Sarkarung, S. et Datta, S. (1997). Physiology and genetics of submergence tolerance in rice. *Annals of Botany*, 79: 67-77.
- Setter, T.L. et Waters, I. (2003). Review of prospects for germplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant and Soil*, 253: 1-34.
- Shahriari, A.R. (2003). Etude des relations sol-racine et des réponses de croissance et de développement du chêne pédonculé et du chêne sessile aux situations de stress hypoxique ou anoxique liées à l'hydromorphie temporaire. Thèse de doctorat. In *U.F.R. Sciences et Techniques*. pp. 184. Besançon, France: Université de Franche-Comté.
- Siebel, H.N. et Blom, C.W.P.M. (1998). Effects of irregular flooding on the establishment of tree species. *Acta Botanica Neerlandica*, 47: 231-240.
- Siebel, H.N., Wijk, M.V. et Blom, C.W.P.M. (1998). Can tree seedling survive increased flood levels of rivers? *Acta Botanica Neerlandica*, 47: 219-230.
- Smith, R.G.B. et Brock, M.A. (2007). The ups and downs of life on the edge: the influence of water level fluctuations on biomass allocation in two contrasting aquatic plants. *Plant Ecology*, 188: 103-116.
- Sonesson, L.K. (1994). Growth and survival after cotyledon removal in *Quercus robur* seedlings, grown in different natural soil types. *Oikos*, 69: 65-70.

- Steffens, B., Wang, J. et Sauter, M. (2006). Interactions between ethylene, gibberellin and abscisic acid regulate emergence and growth rate of adventitious roots in deepwater rice. *Planta*, 223: 604-612.
- Stöhr, C. et Stremlau, S. (2006). Formation and possible roles of nitric oxide in plant roots. *Journal of Experimental Botany*, 57: 463-470.
- Stoimenova, M., Libourel, I.G.L., Ratcliffe, R.G. et Kaiser, W.M. (2003). The role of nitrate reduction in the anoxic metabolism of roots. II. Anoxic metabolism of tobacco roots with or without nitrate reductase activity. *Plant and Soil*, 253: 155-167.
- Streng, D.R., Glitzenstein, J.S. et Harcombe, P.A. (1989). Woody seedling dynamics in an east Texas floodplain forest. *Ecological Monographs*, 59: 177-204.
- Subbaiah, C.C. et Sachs, M.M. (2003). Molecular and cellular adaptations of Maize to flooding stress. *Annals of Botany*, 91: 119-127.
- Summers, J.E., Ratcliffe, R.G. et Jackson, M.B. (2000). Anoxia tolerance in the aquatic monocot *Potamogeton pectinatus*: absence of oxygen stimulates elongation in association with an unusually large Pasteur effect. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1413-1422.
- Sun, O.J., Sweet, G.B., Whitehead, D. et Buchan, G.D. (1995). Physiological responses to water stress and waterlogging in *Nothofagus* species. *Tree Physiology*, 15: 629-638.
- Sun, Z. et Henson, C.A. (1991). A quantitative assessment of the importance of barley seed α -amylase, β -amylase, debranching enzyme, and α -glucosidase in starch degradation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 284: 298-305.
- Thomas, F.M. (2000). Vertical rooting patterns of mature *Quercus* trees growing on different soil types in northern Germany. *Plant Ecology*, 147: 95-103.
- Thomas, F.M., Blank, R. et Hartmann, G. (2002). Abiotic and biotic factors and their interactions as causes of oak decline in Central Europe. *Forest Pathology*, 32: 277-307.
- Thomas, F.M. et Hartmann, G. (1998). Tree rooting patterns and soil water relations of healthy and damaged stands of mature oak (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* [Matt.] Liebl.). *Plant and Soil*, 203: 145-158.
- Thomas, F.M. et Hilker, C. (2000). Nitrate reduction in leaves and roots of young pedunculate oaks (*Quercus robur*) growing on different nitrate concentrations. *Environmental and Experimental Botany*, 43: 19-32.
- Thomas, F.M. et Sprenger, S. (2008). Responses of two closely related oak species, *Quercus robur* and *Q. petraea*, to excess manganese concentrations in the rooting medium. *Tree Physiology*, 28: 343-353.
- Timbal, J. et Aussenac, G. (1996). An overview of ecology and silviculture of indigenous oaks in France. *Annals of Forest Science*, 53: 649-661.
- Tischner, R., Planchet, E. et Kaiser, W.M. (2004). Mitochondrial electron transport as a source for nitric oxide in the unicellular green alga *Chlorella sorokiniana*. *FEBS Letters*, 576: 151-155.
- Tournaire-Roux, C., Sutka, M., Javot, H., Gout, E., Gerbeau, P., Luu, D.-T., Bligny, R. et Maurel, C. (2003). Cytosolic pH regulates root transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature*, 425: 393-397.
- Trowbridge, W.B., Kalmanovitz, S. et Schwartz, M.W. (2005). Growth of valley Oak (*Quercus lobata* Nee) in four floodplain environments in the central valley of California. *Plant Ecology*, 176: 157-164.
- Van Breusegem, F. et Dat, J.F. (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant physiology*, 141: 384-390.

- Van Eck, W.H.J.M., Lenssen, J.P.M., Van De Steeg, H.M., Blom, C.W.P.M. et De Kroon, H. (2006). Seasonal dependent effects of flooding on plant species survival and zonation: a comparative study of 10 terrestrial grassland species. *Hydrobiologia*, 565: 59-69.
- Van Handel, E. (1968). Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*, 22: 280-283.
- Vartapetian, B. (2005). Plant anaerobic stress as a novel trend in ecological physiology, biochemistry, and molecular biology: 1. Establishment of a new scientific discipline. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52: 826-844.
- Vartapetian, B.B. (2006). Plant anaerobic stress as a novel trend in ecological physiology, biochemistry, and molecular biology: 2. Further development of the problem. *Russian Journal of Plant Physiology*, V53: 711-738.
- Vartapetian, B.B. et Jackson, M.B. (1997). Plant adaptations to anaerobic stress. *Annals of Botany*, 79 (Supplement A): 3-20.
- Vasellati, V., Oosterheld, M., Medan, D. et Loreti, J. (2001). Effects of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. *Annals of Botany*, 88: 355-360.
- Velázquez, M., Campillo, M.C.D. et Torrent, J. (2005). Temporary flooding increases iron phytoavailability in calcareous Vertisols and Inceptisols. *Plant and Soil*, 266: 195-203.
- Viaux, P. (1981). Conservation des échantillons de sol en vue d'un dosage de l'azote minéral. *Science du Sol*, 1: 73-88.
- Vincent, G., Shahriari, A.R., Lucot, E., Badot, P.-M. et Epron, D. (2006). Spatial and seasonal variations in soil respiration in a temperate deciduous forest with fluctuating water table. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 2527-2535.
- Vincke, C. et Delvaux, B. (2005). Porosity and available water of temporarily waterlogged soils in a *Quercus robur* (L.) declining stand. *Plant and Soil*, 271: 189-203.
- Visser, E. et Voesenek, L. (2005). Acclimation to soil flooding - sensing and signal-transduction. *Plant and Soil*, 274: 197-214.
- Visser, E.J.W., Colmer, T.D., Blom, C.W.P.M. et Voesenek, L.A.C.J. (2000). Changes in growth, porosity, and radial oxygen loss from adventitious roots of selected mono- and dicotyledonous wetland species with contrasting types of aerenchyma. *Plant, Cell and Environment*, 23: 1237-1245.
- Visser, E.J.W., Nabben, R.H.M., Blom, C.W.P.M. et Voesenek, L.A.C.J. (1997). Elongation by primary lateral roots and adventitious roots during conditions of hypoxia and high ethylene concentrations. *Plant, Cell & Environment*, 20: 647-653.
- Visser, E.J.W. et Pierik, R. (2007). Inhibition of root elongation by ethylene in wetland and non-wetland plant species and the impact of longitudinal ventilation. *Plant, Cell and Environment*, 30: 31-38.
- Voesenek, L.A.C.J., Vriezen, W.H., Smekens, M.J.E., Huitink, F.H.M., Bogemann, G.M. et Blom, C.W.P.M. (1997). Ethylene sensitivity and response sensor expression in petioles of *Rumex* species at low O₂ and high CO₂ concentrations. *Plant physiology*, 114: 1501-1509.
- Vreugdenhil, S.J., Kramer, K. et Pelsma, T. (2006). Effects of flooding duration, -frequency and -depth on the presence of saplings of six woody species in north-west Europe. *Forest Ecology and Management*, 236: 47-55.
- Wagner, P.A. et Dreyer, E. (1997). Interactive effects of waterlogging and irradiance on the photosynthetic performance of seedlings from three oak species displaying different sensitivities (*Quercus robur*, *Q. petraea* and *Q. rubra*). *Annals of Forest Science*, 54: 409-429.

- Walls, R.L., Wardrop, D.H. et Brooks, R.P. (2005). The impact of experimental sedimentation and flooding on the growth and germinated of floodplain trees. *Plant Ecology*, 176: 203-213.
- Watson, G.W. et Kelsey, P. (2006). The impact of soil compaction on soil aeration and fine root density of *Quercus palustris*. *Urban Forestry & Urban Greening*, 4: 69-74.
- Wilkinson, S. (1999). PH as a stress signal. *Plant Growth Regulation*, 29: 87-99.
- Witt, W. et Sauter, J.J. (1996). Purification and characterization of α -amylase from poplar leaves. *Phytochemistry*, 41: 365-372.
- Xing, G.X., Cao, Y.C., Shi, S.L., Sun, G.Q., Du, L.J. et Zhu, J.G. (2002). Denitrification in underground saturated soil in a rice paddy region. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 1593-1598.
- Xu, Y.-J., Röhrig, E. et Fölster, H. (1997). Reaction of root systems of grand fir (*Abies grandis* Lindl.) and Norway spruce (*Picea abies* Karst.) to seasonal waterlogging. *Forest Ecology and Management*, 93: 9-19.
- Yamamoto, F., Sakata, T. et Terazawa, K. (1995). Physiological, morphological and anatomical responses of *Fraxinus mandshurica* seedlings to flooding. *Tree Physiology*, 15: 713-719.
- Yamanoshita, T., Masumori, M., Yagi, H. et Kojima, K. (2005). Effects of flooding on downstream processes of glycolysis and fermentation in roots of *Melaleuca cajuputi* seedlings. *Journal of Forest Research*, 10: 199-204.
- Ye, Y., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. et Lu, C.Y. (2003). Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany*, 49: 209-221.
- Yordanova, R.Y., Alexieva, V.S. et Popova, L.P. (2003). Influence of root oxygen deficiency on photosynthesis and antioxidant status in barley plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50: 163-167.
- Yordanova, R.Y., Christov, K.N. et Popova, L.P. (2004). Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51: 93-101.
- Zeng, Y., Wu, Y., Avigne, W.T. et Koch, K.E. (1999). Rapid repression of Maize invertases by low oxygen. Invertase/sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival. *Plant physiology*, 121: 599-608.
- Zhang, C., Peng, S., Peng, X., Chavez, A.Q. et Bennett, J. (1997). Response of glutamine synthetase isoforms to nitrogen sources in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Plant Science*, 125: 163-170.
- Zhou, W. et Lin, X. (1995). Effects of waterlogging at different growth stages on physiological characteristics and seed yield of winter rape (*Brassica napus* L.). *Field Crops Research*, 44: 103-110.

XII. Annexes

XII.1 Composition de la tourbe du substrat de culture

Annexe 1. Composition de la tourbe (support de culture NF U 44-551, Klasman France, Le Champety 38300 Ruy) utilisée dans le mélange terre/tourbe (8/1, v/v) du substrat de culture.

Tourbe de sphaigne noire gelée et blonde	
Matière sèche en masse de produit brut	25 %
Matière organique en masse de produit brut	20 %
pH (H ₂ O)	6,0
pH (CaCl ₂)	5,5 – 6,0
Résistivité	1100 ohms cm
Capacité de rétention pour l'eau	750 mL.L ⁻¹

XII.2 Analyse de la composition minérale du substrat de culture

Annexe 2. Composition minérale de la terre forestière utilisée pour le mélange du substrat de culture (terre brut initiale), du mélange terre/tourbe avant utilisation et du sol rhizosphérique récolté en fin d'expérience (récolte R2) dans les pots de culture de *Q. robur* et de *Q. petraea* en conditions témoin, ennoyés et ennoyés puis drainés. Les résultats sont exprimés en mg de minéral par g de matière sèche. Moyenne \pm erreur standard, $n=5$.

Eléments minéraux (mg.g ⁻¹ _{MS})	terre brut initiale	mélange terre/tourbe	sol rhizosphérique en fin d'expérience (récolte R2)					
			<i>Q. robur</i>			<i>Q. petraea</i>		
			Témoin	Ennoyé	Ennoyé - Drainé	Témoin	Ennoyé	Ennoyé - Drainé
totaux								
Ca	27,81 \pm 1,39	30,54 \pm 0,84	28,31 \pm 0,30	28,11 \pm 1,08	26,80 \pm 0,40	30,00 \pm 0,72	28,95 \pm 3,17	32,43 \pm 7,45
K	2,45 \pm 0,09	2,78 \pm 0,14	2,36 \pm 0,10	2,67 \pm 0,13	2,43 \pm 0,08	2,39 \pm 0,10	2,44 \pm 0,02	2,81 \pm 0,84
Mg	3,59 \pm 0,05	3,74 \pm 0,07	3,42 \pm 0,14	3,45 \pm 0,04	3,46 \pm 0,07	3,49 \pm 0,05	3,47 \pm 0,04	3,85 \pm 0,82
Na	0,07 \pm 0,00	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,00	0,07 \pm 0,02
Fe	24,99 \pm 0,54	24,39 \pm 0,85	19,34 \pm 0,93	19,20 \pm 0,73	19,01 \pm 0,33	21,87 \pm 0,31	18,86 \pm 0,40	22,99 \pm 2,76
Mn	1,24 \pm 0,11	1,23 \pm 0,04	1,20 \pm 0,04	1,21 \pm 0,06	1,25 \pm 0,05	1,21 \pm 0,02	1,20 \pm 0,14	1,45 \pm 0,47
échangeables								
Ca	2,31 \pm 0,10	2,33 \pm 0,03	2,38 \pm 0,04	2,34 \pm 0,05	2,34 \pm 0,03	2,40 \pm 0,04	2,35 \pm 0,06	2,32 \pm 0,05
K	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,12 \pm 0,00	0,10 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01
Mg	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,09 \pm 0,00	0,09 \pm 0,00	0,13 \pm 0,00	0,10 \pm 0,00
Na	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Fe	0,25 \pm 0,06	0,21 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00	0,34 \pm 0,01	0,32 \pm 0,00	0,39 \pm 0,16	0,52 \pm 0,12	0,49 \pm 0,07
Mn	0,12 \pm 0,10	0,16 \pm 0,08	0,13 \pm 0,01	0,51 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,15 \pm 0,03	0,54 \pm 0,03	0,13 \pm 0,01

nd : non déterminé

L'analyse de la composition minérale des éléments minéraux du sol (Annexe 2) montre que l'ennoyage n'influence pas la quantité totale des ces éléments. La teneur en éléments échangeables, ce qui correspond aux éléments solubles et donc assimilable par la plante, très peu de variations sont observables. Seuls le fer et plus particulièrement le manganèse montrent des teneurs plus élevées en conditions d'ennoyage. Les teneurs en manganèse échangeable sont quasiment multipliées par quatre pendant l'ennoyage. Ensuite, après drainage ces teneurs diminuent. Ces phénomènes de réduction du fer et du manganèse sont habituels en conditions d'ennoyage (§ II.3, p 18). La forte solubilité du manganèse rencontrée en conditions d'ennoyage peut avoir des effets toxiques pour les plantes. Une étude récente montre que le chêne pédonculé et le chêne sessile sont des espèces particulièrement tolérantes aux excès de manganèse dans le sol (Thomas et Sprenger 2008). L'exposition à de fortes teneurs en manganèse a des effets limités chez ces espèces. Cependant, à forte concentration, cet élément perturbe l'assimilation des autres éléments minéraux, notamment du fer nécessaire pour la synthèse des pigments chlorophylliens, inhibe la photosynthèse et entraîne une réduction de la croissance racinaire des chênes (Thomas et Sprenger 2008). L'excès de manganèse est également connu pour altérer directement la synthèse de la chlorophylle (Marschner 1995). A très forte concentration, les effets du manganèse semblent plus néfastes pour le chêne sessile que pour le chêne pédonculé mais, néanmoins, ces deux espèces présentent globalement un comportement similaire face à un excès de manganèse (Thomas et Sprenger 2008). Dans leurs expériences, ces auteurs utilisent des solutions de culture dont les concentrations en Mn^{2+} sont 100 fois (excès) et 500 fois (très forte concentration) supérieures aux conditions témoin (Mn^{2+} à 0,0024 mM). Dans nos conditions expérimentales, la présence de cet élément relativement peu toxique pour ces espèces n'est probablement pas un facteur qui intervient significativement dans la différence de tolérance à l'ennoyage.

Recherche de marqueurs physiologiques de tolérance à l'ennoyage chez le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et le chêne sessile (*Quercus petraea* [Mattus.] Liebl.)

Ce travail a pour objectif d'améliorer la connaissance des mécanismes physiologiques qui président à la tolérance à l'ennoyage du chêne. La principale contrainte de l'ennoyage est un déficit en oxygène (hypoxie). Les réponses à ce stress sont étudiées chez le chêne pédonculé (réputé tolérant) et le chêne sessile (plus sensible), à des stades précoces de développement des semis, en présence des cotylédons. Une période de drainage est incluse pour mimer un ennoyage temporaire. La croissance des semis a été suivie, notamment au niveau de l'architecture racinaire. La contribution de la nutrition azotée (assimilation et allocation) a été évaluée en suivant au préalable le devenir des éléments minéraux azotés dans la rhizosphère. La gestion des réserves glucidiques (amidon et sucres solubles) des organes de réserve (cotylédons) et des organes en croissance lors du développement des semis a été mise en relation avec la tolérance à l'ennoyage des chênes.

Il ressort des paramètres de croissance étudiés que l'ennoyage a peu d'effets sur la première vague de croissance foliaire mais inhibe la deuxième vague, alors que la croissance racinaire est particulièrement inhibée. Néanmoins, le chêne pédonculé est capable d'une forte colonisation racinaire des horizons superficiels du sol ennoyé et, après drainage, son aptitude à régénérer des racines est plus efficace que chez le chêne sessile.

Dans la rhizosphère, l'ennoyage entraîne un basculement réversible des formes azotées nitrates / ammonium. Les modifications du métabolisme azoté sont globalement similaires entre les deux espèces. L'assimilation de l'azote, via la nitrate réductase et la glutamine synthétase, n'est pas réellement perturbée mais, les deux espèces présentent une carence azotée au niveau foliaire. L'assimilation et l'allocation azotée n'apparaissent pas comme des traits discriminants de la tolérance à l'ennoyage chez ces espèces.

Sous ennoyage, l'accumulation totale d'amidon est réduite mais elle reste active dans la partie basale du pivot et dans la tige des deux espèces. Elle est cependant plus élevée chez le chêne pédonculé. L'ennoyage restreint la mobilisation des réserves cotylédonaires d'amidon, notamment chez le chêne pédonculé. L'activité des α -amylases cotylédonaires corrobore le taux de mobilisation de l'amidon. La tolérance à l'ennoyage des semis de chêne n'est pas associée à une stimulation de la mobilisation des réserves glucidiques cotylédonaires. Le chêne pédonculé serait plus économe en glucide que le chêne sessile (faible mobilisation cotylédonaire / stockage d'amidon élevé / meilleure croissance). Cette particularité pourrait constituer un marqueur physiologique important de la tolérance à l'ennoyage chez les chênes.

Mots clé : amidon, cotylédons, croissance racinaire, hypoxie, nutrition azotée, réserves glucidiques

Physiological patterns of flooding tolerance investigated in pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and sessile oak (*Quercus petraea* [Mattus.] Liebl.)

The aim of this study was to improve knowledge on the physiological patterns of flooding tolerance in young oak seedlings. The main flooding constraint affecting plants is oxygen deficiency (root hypoxia). The responses to this stress were investigated in pedunculate oak (known as tolerant) and sessile oak (more sensitive), at the early stage of seedling development, in the presence of cotyledons. A drained stage was included to mimic a transient soil waterlogging. One part of the study was related to seedlings growth, especially root distribution. The nitrogen nutrition (assimilation and allocation) was studied after monitoring the nitrogen nutrient change in the flooded rhizosphere. During the seedling development, the patterns of carbohydrate management (starch and sugars) in storage organ (cotyledons) and in growth organs have been connected with the oaks flooding tolerance.

Flooding impact on the first flush of growth was limited and then the second flush was more affected while flooding drastically reduced the root growth. Nevertheless, pedunculate oak showed a stronger root system than sessile oak, especially by maintaining root colonization in the shallow soil layer. Pedunculate oak also showed a higher ability to regenerate roots after drainage.

Nitrogen content monitoring in the rhizospheric soil showed a reversible switch between nitrate and ammonia

under flooding. The nitrogen metabolism of the two oak species showed similar responses to flooding. Nitrogen assimilation by nitrate reductase and glutamine synthetase activities was not clearly affected. However, flooding led to nitrogen deficiency in the leaves of the two oak species. Therefore, nitrogen nutrition was not a discriminating feature of the flooding tolerance of these species.

The total starch content of flooded seedlings was significantly decreased in both species. However, starch accumulation processes were still active, especially in the first flush stem and in the upper taproot section. Under flooding, pedunculate oak accumulated higher amounts of starch than sessile oak. Starch mobilization from cotyledons was delayed by flooding, especially in pedunculate oak seedlings. The α -amylase activity of cotyledons was corroborated to the starch mobilization rate. Therefore, oaks flooding tolerance is not linked to a stimulation of the mobilization rate of carbohydrate from cotyledon. Pedunculate oak seemed to better save carbohydrate on flooding than sessile oak (lower cotyledon mobilization / higher starch accumulation / higher growth rate). The features of carbohydrate management may be crucial in the observed differences in flooding tolerance. This might be a significant physiological pattern of oak species flooding tolerance.

Keywords: carbohydrate reserves, cotyledons, hypoxia, nitrogen nutrition, root growth, starch
